

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

ESCUELA UNIVERSITARIA DE ÓPTICA
Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**CAMBIOS FISIOLÓGICOS DE LA CÓRNEA EN
RESPUESTA AL USO DE ORTOQUERATOLOGÍA
NOCTURNA.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Amelia Nieto Bona

Bajo la dirección de la doctora

Amalia Lorente Velázquez

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-2056-0

© Amelia Nieto Bona, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

ESCUELA DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**CAMBIOS FISIOLÓGICOS DE LA CÓRNEA EN
RESPUESTA AL USO DE ORTOQUERATOLOGÍA
NOCTURNA**

TESIS DOCTORAL

AMELIA NIETO BONA

Madrid, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

ESCUELA DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**CAMBIOS FISIOLÓGICOS DE LA CÓRNEA EN
RESPUESTA AL USO DE ORTOQUERATOLOGÍA
NOCTURNA**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por

AMELIA NIETO BONA

Madrid, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

ESCUELA DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Departamento de Óptica II (Optometría y Visión)



**CAMBIOS FISIOLÓGICOS DE LA CÓRNEA EN
RESPUESTA AL USO DE ORTOQUERATOLOGÍA
NOCTURNA**

AMELIA NIETO BONA

Directora: Dra. AMALIA LORENTE VELÁZQUEZ

A Coli, mi amigo, compañero y marido

A mis hijos, Ángela y Carlos

A mi madre, Ángela

A mi hermano, Luis

A todos ellos por diferentes motivos, les dedico este trabajo

INFORME DE LA DIRECTORA DE LA TESIS

INFORME DE LA DIRECTORA DE LA TESIS

Dña. AMALIA LORENTE VELÁZQUEZ, Profesora Titular de Universidad de la Escuela de Óptica y Optometría de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICA:

Que **Dña. AMELIA NIETO BONA**, Máster en Óptica, Optometría y Visión de, ha realizado bajo su dirección, en el Departamento de Óptica II (Optometría y Visión) de la Escuela Universitaria de Óptica, la Tesis Doctoral titulada **“CAMBIOS FISIOLÓGICOS DE LA CÓRNEA EN RESPUESTA AL USO DE ORTOQUERATOLOGÍA NOCTURNA”** para optar al grado de Doctora en Optometría por la Universidad Complutense de Madrid. Informa que el presente trabajo ha sido realizado sobre la base de hipótesis científicas, contiene una base experimental y unos resultados originales, y posee un formato académico pertinente. Considero reúne las condiciones necesarias para ser defendido ante el tribunal correspondiente.

En Madrid a 12 de Julio de 2010



Fdo. Dra. Amalia Lorente Velázquez

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

A Amalia Lorente Velázquez. Por su confianza en mi que consiguió que creyera en mi misma y, por su infatigable apoyo.

A Ana Gómez Mesa por su ayuda en la realización de las pruebas.

Al personal de Clínicas Novovisión de Madrid, especialmente a César Villa y a Ramón Gutiérrez por permitir la utilización de sus infraestructuras.

A INDO S. A. y especialmente a David López, por su disposición con el préstamo del Microscopio Confocal, sin cuya ayuda desinteresada este trabajo no hubiese sido posible.

A INTERLENCO S.A. y especialmente a Antonio Moreno por su gran apoyo y por el préstamo de las lentes de contacto CRT.

A los participantes en el estudio clínico por su encomiable paciencia.

A mis compañeros de la EUO, especialmente a Jesús Carballo por su ayuda y disponibilidad, a Catalina Palomo por sus consejos sobre la elaboración de la tesis y a Gema Felipe siempre dispuesta a ayudar.

A mis compañeros del Instituto Castroviejo por el préstamo de las imágenes de microscopía óptica.

Y no por estar en último lugar, menos importante:

A mi familia por su amor, su apoyo incondicional y por ser los verdaderos sufridores de mi trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL

INFORME DE LA DIRECTORA DE LA TESIS

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE

ESTRUCTURA DE LA TESIS	1
I. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	5
1. JUSTIFICACIÓN.....	7
2. OBJETIVO E HIPÓTESIS DEL TRABAJO.....	15
2.1 Objetivo General.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
2.3 Temporalización.....	16
2.4 Hipótesis.....	16
II. INTRODUCCIÓN.....	17
1. FISIOLOGÍA E HISTOLOGÍA DE LA CÓRNEA.....	19
1.1 Endotelio.....	21
1.2 Estroma.....	23
1.3 Membrana de Bowman.....	25
1.4 Sistema Sensorial.....	26
1.5 Epitelio.....	27
2. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA CELULAR.....	30
2.1 Microscopía confocal.....	32
3. ORTOQUERATOLOGÍA.....	36

III. METODOLOGÍA GENERAL.....	41
1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	43
1.1 Criterios de inclusión.....	43
1.2 Criterios de exclusión.....	44
1.3 Población.....	44
2. MATERIAL.....	46
2.1 Adaptación de Lentes.....	46
3. PROTOCOLO.....	47
3.1 Microscopía Confocal In Vivo.....	48
3.2 Consentimiento informado.....	56
3.3 Encuesta de satisfacción.....	56
4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	57
IV. RESULTADOS.....	61
1. REFRACCIÓN, AGUDEZA VISUAL Y RADIOS CORNEALES.....	63
2. HISTOLOGÍA CELULAR Y ESPESOR CORNEAL.....	67
2.1 Grupo 1 versus grupo 3 (control).....	67
2.2 Grupo 2	81
2.2.1 Grupo 1 versus grupo 2.....	81
2.2.2 Grupo 2.....	87
2.3 Grupo LASIK.....	95
2.4 Comparativa grupos.....	97

V. DISCUSIÓN.....	101
1. REFRACCIÓN, AGUDEZA VISUAL Y RADIOS CORNEALES.....	103
2. HISTOLOGÍA CELULAR.....	106
2.1 Endotelio.....	107
2.2 Estroma.....	108
2.3 Epitelio.....	113
3. ESTUDIO DEL ESPESOR CORNEAL.....	116
4. SUMARIO.....	121
VI. CONCLUSIONES.....	123
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	125
VIII. ANEXOS.....	147
I. Consentimiento informado del estudio.....	149
II. Consentimiento informado adaptación.....	151
III. Ficha de registro de resultados.....	155
IV. Registro de imágenes.....	157
V. Encuesta de satisfacción.....	159
VI. Contribuciones científicas.....	161
VII. Proyectos de investigación.....	165
IX. LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS.....	167
X. GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	171

ESTRUCTURA DE LA TESIS

ESTRUCTURA DE LA TESIS

La Memoria de la presente tesis se ha estructurado en siete capítulos y tres anexos. En el capítulo 1 se expone la justificación de la investigación que se presenta en esta tesis doctoral, basándose en la fundamentación teórica a partir de la revisión bibliográfica que analiza los cambios corneales secundarios al uso de lentes de contacto. Además, se establecen la hipótesis y los objetivos perseguidos en este estudio. En el capítulo 2 se revisa la morfología corneal incluyendo los métodos de evaluación de la misma por ser el objeto principal de valoración en esta investigación. Se profundiza en el microscopio confocal por ser el instrumento de medida utilizado en este estudio. Por otro lado, se revisa el concepto, evolución y estado actual de la ortoqueratología por ser el factor causante de los posibles cambios que se analizarán en el estudio.

Los capítulos 3 a 7 incluyen el desarrollo completo de la investigación siguiendo el formato actual de cualquier publicación indexada, esto es: metodología, resultados, discusión, conclusiones y bibliografía, incluyendo propuestas para futuros estudios sobre esta área de investigación.

El capítulo 8 se compone de una serie de anexos. En los cinco primeros aparecen los consentimientos informados, los formatos de recogida de datos y otros documentos utilizados en la investigación. A continuación en los anexos VI y VII se recogen las contribuciones científicas y los proyectos de investigación relacionados con el desarrollo del doctorado. Para terminar, se incorporan dos capítulos con las listas de símbolos, abreviaturas y siglas y el glosario de términos.

I. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

1. JUSTIFICACIÓN

Existen dos técnicas utilizadas para conseguir la independencia de la compensación óptica en miopía: la cirugía refractiva ocular (CR) y la técnica de ortoqueratología (OK). Ésta última puede utilizarse en régimen de uso diario o nocturno, como se realiza comúnmente en la actualidad, y es conocida como ortoqueratología nocturna (OKN). También es conocida como terapia refractiva corneal (CRT). El estudio de la CR se conoce con bastante detalle en lo que se refiere a los cambios morfológicos de la córnea, dado que ha sido ampliamente investigado en humanos y en animales, tanto con estudios prospectivos como retrospectivos. Estos cambios también han sido analizados mediante estudios histológicos (ex vivo) en córneas de donantes como en seguimientos clínicos “in vivo”. Sin embargo, los cambios morfológicos secundarios al uso de OKN han sido menos estudiado. La mayoría de las investigaciones se han realizado en animales y, de las que existen en humanos, son de diseño retrospectivo. No obstante, existen algunos estudios en humanos que valoran los cambios morfológicos de la córnea en respuesta al uso de lentes de contacto convencionales: hidrófilas, rígidas y permeables al gas con los que poder establecer comparaciones dada la similitud del tratamiento, particularmente con las lentes permeables al gas.

CRT es el primer diseño aprobado para OKN por la Food and Drugs Administration (FDA) americana en junio de 2002 ^{Koffler et al. 2004}. Esta aprobación ha supuesto el respaldo de eficacia, predictibilidad y seguridad que la técnica necesitaba. Actualmente, se puede conseguir el cambio refractivo de una manera rápida y precisa, resultando que esta opción de tratamiento sea una importante alternativa a los diferentes tipos de compensación óptica, en particular para aquellos sujetos que quieren prescindir de las gafas o de las lentes de contacto durante el día e incluso para aquellos que se están planteando la cirugía refractiva. La mayor eficacia en inducir los cambios deseados en la córnea ha provocado que esta técnica haya comenzado a utilizarse con resultados muy satisfactorios siendo cada vez más demandada en la clínica. Por este motivo, resulta necesario caracterizar los efectos que

este procedimiento induce en la morfología corneal con estudios diseñados para la valoración en un tiempo prolongado de uso.

El desarrollo tecnológico de nuevos dispositivos tales como el microscopio confocal y la tomografía de coherencia óptica han supuesto un gran avance respecto a los métodos tradicionales ya que permiten la valoración de las distintas estructuras corneales “in vivo”, tanto en lo que se refiere al espesor de cada estructura como en la organización celular de las mismas. Se ha demostrado que la córnea sufre alteraciones anatómico-morfológicas secundarias a tratamientos de cirugía refractiva corneal tales como queratomileusis “in situ” asistida con láser excimer (LASIK), fotoqueratectomía refractiva (PRK) y a técnicas con lentes intraoculares tanto con estudios histológicos (ex vivo) como en otros de valoraciones “in vivo” ^{Jay et al. 2004, Jay et al. 2006, McLaren et al. 2007}. Sin embargo, la influencia de un tratamiento de OKN sobre la distribución de las células corneales es prácticamente desconocida. La utilización del tratamiento CRT induce un cambio a nivel estructural de la córnea mediante el aplanamiento de su superficie ocular central. Por este motivo, resulta necesario plantearse el estudio de cómo afecta este tratamiento a la distribución de las capas celulares que constituyen la córnea. Hasta hace aproximadamente 10 años, el estudio de la morfología corneal únicamente podía abordarse mediante la obtención de cortes histológicos post-mortem. Hasta entonces, los estudios describían la forma, la distribución y la densidad celular en secciones perpendiculares a la córnea. La posibilidad de poder estudiar las estructuras de la córnea viva surge cuando en 1987, Minsky ^{Minsky, 1988} patentó un instrumento que examina el tejido del cerebro utilizando por primera vez un microscopio confocal. La posibilidad de utilizarlo en clínica se produce a mediados de los 90 y su posterior mejora, hace que en la actualidad esta técnica se esté utilizando en muchos estudios clínicos dado que permite evaluar cambios en el mismo momento en que se están produciendo. Esta tecnología ha sido validada en un estudio ^{Popper et al. 2004} en el que se compararon medidas obtenidas con MC y con métodos histológicos e informaron de la repetibilidad y acuerdo entre ambas técnicas en la densidad celular de la córnea.

En la última década, una aplicación de la microscopía confocal que ha surgido con mucha fuerza dentro de la comunidad científica ha sido su aplicación a la cirugía refractiva ocular. El motivo ha sido el interés que se ha suscitado por conocer cuáles son los cambios que estos procesos de reducción de la miopía tienen sobre las capas celulares del ojo tras dicha intervención. La mayor parte de los estudios cuantifican diferencias en el número de células estromales entre los procesos pre y postoperatorios en los sujetos intervenidos por cirugía refractiva corneal. Se trata en su mayoría de estudios desarrollados a largo plazo en los que se observa una disminución de la densidad de los queratocitos en la zona del flap y de la capa anterior a la ablación ^{Jay et al 2004, Jay et al. 2006, McLaren et al 2006}.

El estudio de la morfología corneal utilizando microscopía confocal ha sido investigado: en la córnea normal, en sujetos intervenidos con cirugía refractiva ocular y en usuarios de diferentes tipos de lentes de contacto ^{Jay et al. 2004, Jay et al. 2006, Efron et al. 2002, Hollingsworth & Efron 2004, Efron 2007, Kallinikos & Efron, 2004, Kallinikos et al. 2006}. Sin embargo en el caso del tratamiento CRT, la mayoría de los estudios han sido realizados en animales, con técnicas ex vivo y se centran sobre todo en los cambios obtenidos en el espesor de la diferentes capas corneales, particularmente en el epitelio corneal. A pesar de llevar más de 30 años de estudio, la respuesta corneal a la OK a nivel celular continúa siendo un misterio. Existen trabajos sobre el tema, particularmente en lo que se refiere al espesor del epitelio y al endotelio corneal, estructuras en las que los cambios encontrados parecen coincidir con lo obtenido en los estudios más actuales. Sin embargo, aun no se ha llegado a evidencias concluyentes en lo que se refiere a los cambios producidos en el estroma corneal de los humanos. Existen discrepancias en los resultados y la mayoría de los autores lo achacan a las diferentes tecnologías utilizadas tanto en el instrumental utilizado para valorar los cambios morfológicos como a los diferentes diseños de lente para realizar la OK. Cabe destacar además que la mayor parte de los estudios se han realizado en periodos de tiempo muy cortos por lo que los cambios producidos a largo plazo no han sido analizados. Por otro lado, no se ha comprobado la reversibilidad de los posibles cambios de la morfología celular de la córnea.

Bergmanson & Chu^{Bergmanson & Chu 1982} fueron los primeros en informar de la degeneración de queratocitos en el estroma debido a la utilización de lentes de contacto rígidas (PMMA). La valoración celular fue realizada por microscopía electrónica en primates. Esta investigación fue la que inició una línea de trabajo que explora el efecto de las lentes de contacto en la población de queratocitos. Como mencionamos anteriormente, la reciente disponibilidad del microscopio confocal permite analizar estas células de manera cuantitativa y cualitativa. Posteriormente, otros estudios^{Jalbert et al. 1999, Efron et al. 2002a} mostraron mediante microscopía confocal que la densidad de queratocitos en los humanos disminuye durante el uso de lentes de contacto. Dichos autores atribuyen esta pérdida a 3 posibles etiologías: hipoxia, efectos mediados por citoquinas e inducidos mecánicamente. En 2002, en otro estudio^{Patel et al. 2002} se cuestionaron estos hallazgos al demostrar que los usuarios de lentes de contacto en un periodo de tiempo prolongado no presentaban alteración en la densidad de queratocitos del estroma corneal. Posteriormente, Efron et al.^{Efron et al. 2002b} introdujo la importancia de considerar los niveles de edema para comprender los resultados que aporta la MC, ya que cuando se produce una expansión en el volumen del estroma, la degradación de la imagen producida pueden contribuir a confundir la interpretación de los datos. En un estudio posterior^{Kallinikos & Efron 2004} se sugiere que la lente de contacto induce estimulación mecánica en la superficie corneal que a su vez genera mediadores inflamatorios que producen apoptosis en los queratocitos. Esta sugerencia fue estudiada por los mismos autores^{Kallinikos & Efron 2006} posteriormente concluyendo que la estimulación mecánica provoca la pérdida o redistribución de los queratocitos. Sin embargo, los cambios corneales encontrados usando otros tipos de lentes de contacto pueden no inducir los mismos cambios que la OKN, debido por un lado al diseño de la lente (geometría inversa) que ejerce la presión en el área central y, por otro lado a que los ojos permanecen cerrados durante un número de horas considerable. Por tanto, se podría esperar que la fisiología de las córneas, que utilizan este tratamiento, desarrolle efectos más adversos debido a la mayor hipoxia inducida por el hecho de tener los ojos cerrados.

Como mencionamos anteriormente, en los últimos años, la OKN ha experimentado un auge y vuelven a aparecer estudios relacionados con esta especialidad. Swarbrick et al.^{Swarbrick et al. 1998} fueron los primeros en informar de adelgazamiento del epitelio central y engrosamiento del epitelio periférico medio después de un mes de uso de OK. Si bien la disminución central ha sido confirmada en estudios clínicos de OKN^{Alharbi et al. 2003, Haque et al. 2004} y en modelos animales^{Matsubara et al. 2004}, la naturaleza del engrosamiento periférico es incierta y los estudios en humanos siguen sin ser concluyentes.

Los tres estudios mas recientes siguen mostrando diferencias en los resultados obtenidos. Knappe et al.^{Knappe et al. 2007} abordan este tema utilizando microscopía confocal. Su estudio se llevó a cabo con 5 sujetos durante 25 días de tratamiento. Tras las medidas que se realizaron siempre por la mañana tras la retirada de la lente, se observa una disminución significativa del espesor epitelial central y periférico entre el primer día y el día 13 de tratamiento. A partir de ese momento, el valor del espesor epitelial se estabilizó y no hubo cambios posteriores. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al espesor global de la córnea ni en el centro ni en periferia.

Choo et al.^{Choo et al. 2008} investigan la secuencia de cambios morfológicos en el epitelio de gato después de 4, 8 y 14 días de ortoqueratología continuada. El tejido corneal se evaluó histológicamente después de sacrificar a los animales y se encontró el adelgazamiento central y el engrosamiento periférico. El estudio clínico de más reciente publicación^{Lu et al. 2008} encuentra los mismos resultados en 20 pacientes. Sin embargo, las medidas en el tiempo sólo alcanzan los 15, 30 y 60 minutos de uso de las lentes.

Cheah et al.^{Cheah et al. 2008} investigan los cambios histológicos en la córnea de primates inducidos por OKN en un corto periodo de tiempo de uso e informan de una reducción del espesor central de la córnea tanto del epitelio como del estroma así como de un engrosamiento en la periferia media también en epitelio y estroma. Además informa de cambios en la morfología celular del epitelio.

Recientemente, Zhong et al. ^{Zhong et al. 2009} comparan los cambios en el epitelio y el estroma de córneas humanas que usan OKN en dos grupos de sujetos; el primero con 24 horas de uso y el otro más de 5 años de uso del tratamiento CRT. Estos autores informan de una disminución de la densidad de queratocitos y de un aumento de queratocitos activados en el estroma corneal. Sin embargo, este estudio no controla estas variables a lo largo del tiempo sino que utiliza las medidas preliminares del grupo 1 como control para comparar los resultados obtenidos con el grupo que había usado OKN durante un periodo largo de tiempo.

El interés de esta tesis surge debido a la escasez y a la controversia de investigación existente sobre los cambios morfológicos de la córnea en sujetos que usan OKN. La tabla 1 resume la revisión de los estudios más relevantes publicados en la última década sobre esta área en usuarios de lentes de contacto. En general, los estudios previos al año 2000 se centran en la valoración de los cambios en el endotelio corneal y en los mediadores inflamatorios de la lágrima secundarios al uso de lentes de contacto en general.

El análisis de los datos que aparecen en la tabla 1 evidencia la necesidad de realizar la investigación fruto de esta tesis doctoral. De los veinte estudios listados, siete de ellos se han realizado en OKN y de éstos, tres se han realizado en animales. Todos ellos estudian los cambios en el espesor del epitelio corneal. Sin embargo, sólo dos analizan los cambios morfológicos: uno de ellos los cambios epiteliales y ha sido realizado en primates, y el otro ha estudiado los cambios epiteliales, estromales y endoteliales y ha sido realizado en humanos. Sin embargo, este estudio no contempla una valoración prospectiva de los cambios sino que compara un valor control con el valor obtenido en usuarios de un largo periodo de tiempo. Además, en la Tabla 1 se puede ver que no existen trabajos que estudien simultáneamente cambios en el espesor de las diferentes capas corneales (endotelio, estroma, Bowman, fibras nerviosas y epitelio) y cambios en la morfología celular de las capas corneales citadas. Por otro lado, el único estudio en humanos usuarios de OKN que valora alguna de estas capas es el citado anteriormente y lo hace de forma retrospectiva.

Dada la escasa información existente sobre este tema, resulta necesario un estudio en profundidad que permita establecer los cambios en la forma, la densidad y la distribución celular, así como los cambios en los espesores de las capas corneales cuando se utiliza OKN y con un seguimiento prospectivo de los pacientes. En nuestra opinión, un estudio a lo largo del tiempo ha de plantearse para periodos de hasta por lo menos un año con el fin de establecer de forma rigurosa las implicaciones que a nivel celular en córnea tiene este tratamiento. Asimismo, la valoración de la recuperación tras la interrupción del tratamiento es importante para establecer la permanencia de los cambios obtenidos y, su repercusión sobre la fisiología corneal.

Tabla 1.1: Estudios relevantes relacionados con el tema de la tesis

Autor (1º)	N	D	E	M	Ta	Ti	Te
Jalbert, 1999	9	T	EP	ES	LCH/C	> 12M	
Hollingsworth, 2001	120	T	No	EN, ES	No	-	MC
Ladage, 2001	23 A	P	-	EP	LCGP	24 H	H
Efron, 2002	13	P	-	ES	Desechab	8 H	MC
Esquin, 2002	57	P	-	EN	LCGP	1-12M	LH
Patel 2002	20/20	T	EP	ES	LC/C	>60 M	MC
Ladage, 2003	32 A	P	-	EP	LCR	24 H	H
Hollingsworth, 2004	22	R	-	ES-EN	GP/ C	-	MC
Matsubara, 2004	2 A	P	EP	--	OKN	7-21 D	H
Kallinikos, 2004	20	P	-	ES	LCHSi	2-72 H	MC
Alharbi, 2005	18	P	ES	-	OKN	1-30 D	PO (LH)
Eckard, 2006	68	T	EP	EP	-	-	MC
Kallinikos, 2006	22	R	ES	-	LCHSi/GP	> 12 M	MC/US
Hage, 2007	20	P	EP	-	OKN	1-12 H	OCT
Zhivov, 2007	130	T	-	EP	LC/C	-	MC
Cheah, 2008	9 A	P	EP	EP	OKN	1-24 H	H
Choo, 2008	2 A	P	EP	-	OKN	4-14 D	H
Haque, 2008	20	P	EP	-	OKN	1-12 H	OCT
Egorova, 2008	44	R	EP	EP-ES	LC	> 60 M	MC
Zhong, 2009	56	R	EP	EP-ES-EN	OKN	12H/60M	MC

A: animales D: diseño del estudio, T: transversal, P: prospectivo, R: retrospectivo, E: evaluación del espesor de las capas corneales, M: evaluación de la morfología celular, EP: epitelio, ES: estroma, EN: endotelio, TA: tratamiento evaluado en cada estudio LC: lentes de contacto, GP: gas permeable, SR semi rígidas, R: rígidas, C: control, H: hidrofílicas, Si: silicona, TI: tiempo de uso del tratamiento evaluado en cada estudio, H: horas, D: días, M: meses, TE: tecnología de evaluación en cada estudio, MC: microscopía confocal, H : histología, LH: lámpara hendidura, PO: paquimetría óptica, US: ultrasonido, OCT: tomografía de coherencia óptica.

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DEL TRABAJO

2.1 Objetivo General

La finalidad de la presente tesis es caracterizar el efecto y la reversibilidad que tiene la técnica de CRT sobre la córnea del sistema visual humano en un largo periodo de tiempo. Para ello trataremos de analizar los cambios anatómicos-morfológicos inducidos sobre la córnea tras dicho tratamiento, sin olvidar la calidad visual que será evaluada mediante el análisis objetivo y subjetivo del sistema visual tras la realización de dicho tratamiento.

2.2 Objetivos Específicos

Los objetivos específicos que se pretenden alcanzar con la elaboración de esta tesis son los siguientes:

1. Evaluación de la alteración morfológica y anatómica de las diferentes capas de la córnea.
2. Análisis de la función visual del ojo sometido a este tipo de tratamiento mediante la evaluación de:
 - 2.1. Topografía corneal
 - 2.2. Agudeza visual (alto y bajo contraste)
3. Correlacionar la función visual obtenida con los cambios anatómicos sufridos por la córnea durante el tratamiento.
4. Comparar y discutir los resultados obtenidos en los sujetos OKN con un grupo de sujetos sin tratamiento de reducción de miopía y con un grupo sometido a cirugía refractiva corneal con el fin de evidenciar posibles diferencias entre ellos.

2.3 Temporalización

El objetivo buscado será encontrar las variaciones asociadas a cada una de las capas de la córnea tras el paso del tiempo. Por tanto, la evaluación de cada variable se realizará de manera prospectiva, con las siguientes visitas de evaluación: previamente a la aplicación del tratamiento para el control de los cambios así como a los 15 días, 1mes, 3 meses, 6 meses y 1 año desde el comienzo del tratamiento. Además se valorará la reversibilidad de los posibles cambios tras el cese del tratamiento con medidas a los 15 días y 1 mes después de interrumpir el uso del tratamiento CRT.

Todo ello asegurando que el número de ojos medidos será el suficiente como para garantizar la fiabilidad de la medida realizada.

2.4 Hipótesis

La ortoqueratología nocturna produce cambios anatómicos y morfológicos en el endotelio, en el estroma y en el epitelio corneal.

II. INTRODUCCIÓN

1. FISIOLOGÍA E HISTOLOGÍA DE LA CÓRNEA

La córnea es un tejido avascular y transparente estratificada en 3 capas celulares y dos interfaces: epitelio, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio (Figura 2.1). Su estructura es relativamente simple comparada a otras partes del cuerpo ^{Oyster 1999}. Los tipos de células que la constituyen son células epiteliales, fibroblastos corneales conocidos como queratocitos y células endoteliales. El ojo y las estructuras perioculares están formadas por células que derivan de cuatro tejidos embriológicamente distintos: ectodermo superficial, mesodermo, tubo y cresta neural. La cresta neural desempeña un papel fundamental en el desarrollo del globo ocular ^{Johnson et al. 1979}. Las células epiteliales provienen del ectodermo epidérmico mientras que los queratocitos y las células endoteliales son en origen de la cresta neural. Estos componentes interactúan entre ellos para mantener la integridad y funcionalidad del tejido. La córnea es alimentada por el film lagrimal que cubre su superficie anterior y por el humor acuoso que baña su superficie posterior. Alteraciones en los componentes de ambos fluidos pueden producir cambios patológicos en la córnea.

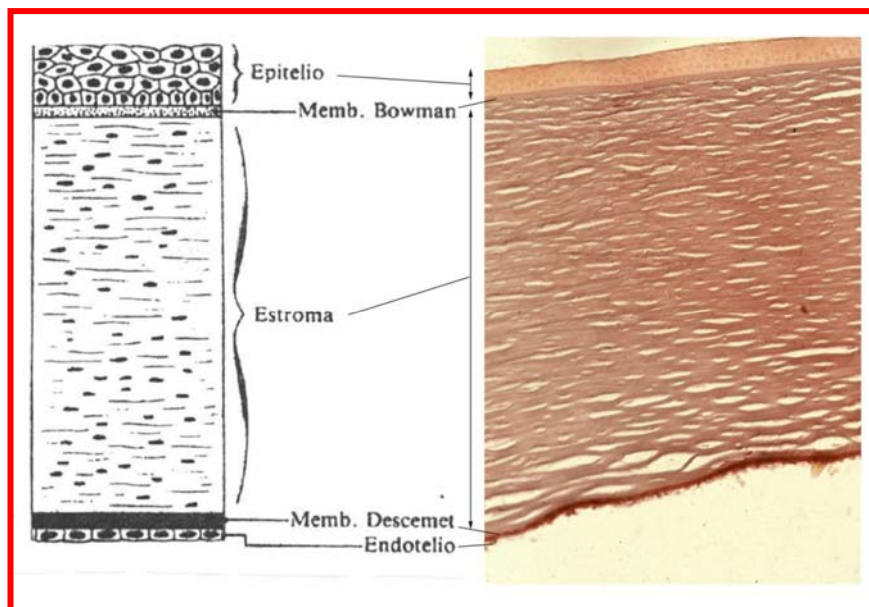


Figura 2.1 Corte histológico obtenido por microscopía óptica (MO,10X) y diagrama comparativo de las capas de la córnea.

Cortesía del Grupo Investigación Básica del Instituto Oftalmología Ramón Castroviejo.
Tinción Unna-Tanzer

La córnea de un humano adulto mide 11 a 12 mm en su diámetro horizontal y 9 a 11 mm en el vertical. Su espesor es de 0.5 mm en el centro y se incrementa gradualmente hacia la periferia donde alcanza hasta 0.7mm. La forma de la superficie anterior es convexa siendo su curvatura mayor en la periferia que en el centro (geometría esférica). El radio de curvatura ronda aproximadamente 7.5 a 8.00 mm en el área central de la córnea (3 mm) donde la superficie es casi esférica. Su potencia refractiva se sitúa entre 40 y 44 dioptrías y constituye las dos terceras partes del total de la potencia refractiva del ojo ^{Nishida 1997}.

Las propiedades de la córnea vienen determinadas por su transparencia, la homogeneidad de su superficie y su contorno, e índice refractivo. La característica mas importante de la córnea es su transparencia ^{Oyster 1999}. La pérdida de dicha transparencia produce efectos visuales secundarios debido al modo en que los fotones de luz interaccionan con los electrones de los átomos y de las moléculas corneales. Esta interacción hace que el impacto de los fotones se convierta en fuentes secundarias de luz y produzcan dispersión de la luz en cualquier dirección desde las moléculas e inevitablemente una pérdida en la calidad óptica. La transparencia de un medio depende de la disposición de sus moléculas. En la córnea, la transparencia depende de las columnas de colágeno, uniformes en tamaño y en el espaciado de sus fibras. Una disminución del orden produce pérdida de transparencia y la magnitud de la pérdida estará en función del grado de desorden de la disposición molecular.

La integridad estructural de la córnea depende de la cohesión entre las fibras de colágeno, de los proteoglicanos que la conforman, de la presión intraocular y de la estabilidad de su deshidratación relativa. EL mantenimiento de su forma y transparencia es crucial para las funciones biológicas de este tejido en refracción y biodefensa ^{Nishida 1997}. Para la refracción, dado que la córnea representa el principal elemento refractivo del ojo, un ligero cambio en el contorno corneal puede producir un error refractivo. Además, pequeñas diferencias en la homogeneidad de superficie o el espesor corneal pueden producir distorsión visual. Es importante resaltar que la óptima transmisión de la luz a través de la córnea esta condicionada por un endotelio funcional, un

estroma transparente, un epitelio homogéneo y continuo además de la regularidad de la película lagrimal y la ordenada disposición de sus capas. Dado que la córnea está expuesta al ambiente exterior, es vulnerable a agentes químicos y biológicos presentes en el mundo exterior. En la mayoría de las partes del cuerpo, la cicatrización se inicia por extravasación de componentes sanguíneos que acompañan la rotura de los vasos sanguíneos. Sin embargo, la córnea es avascular y por tanto su proceso de cicatrización difiere del resto del cuerpo. Aunque no contiene vasos sanguíneos, factores derivados de la sangre juegan un importante papel en el metabolismo y la cicatrización corneal.

A continuación se revisan en más detalle las capas corneales.

1.1 Endotelio

El endotelio es una monocapa celular de morfología hexagonal, regular, situada en la superficie corneal posterior y que se encuentra en contacto directo con el humor acuoso de la cámara anterior. En sección transversal (Fig. 2.2), las células presentan un aspecto cuboidal siendo el hexágono la forma dominante, probablemente porque permite cubrir completamente el plano endotelial, manteniendo el perímetro celular total y el espacio intercelular de forma mínima ^{Olsen 1979}. La célula endotelial humana mide 5 μm y 18 μm de espesor y amplitud, respectivamente y presenta un núcleo redondeado de unas 7 μm de diámetro ^{Hogan et al 1971}.

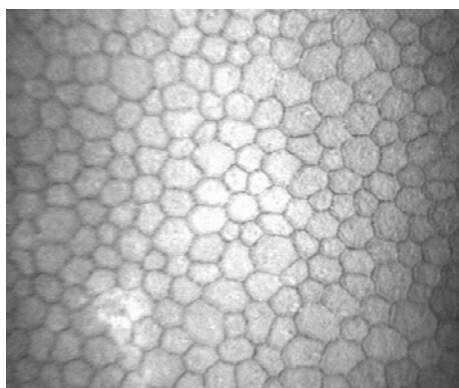


Figura 2.2. Aspecto de endotelio humano
Imagen obtenida con microscopía confocal
por Amelia Nieto

El microscopio electrónico muestra cómo las células están separadas lateralmente (Fig. 2.3) por espacios de 30 μm , que se reducen a 3 μm en las uniones en hendidura (“uniones gap”) hacia la cámara anterior.

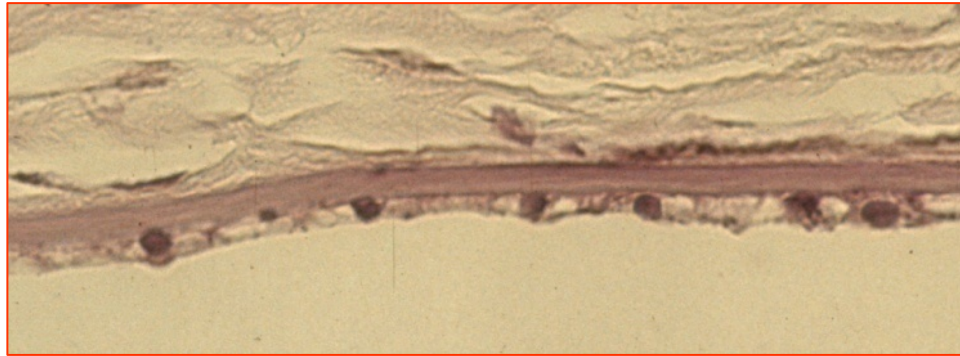


Figura 2.3 Aspecto del endotelio obtenido por MO (63X)

Cortesía del Grupo Investigación Básica del Instituto Oftalmología Ramón Castroviejo.

Tinción Unna-Tanzer

En la córnea normal, la densidad celular en adultos jóvenes es aproximadamente 3500 cel/ mm^2 y 1500 cel/ mm^2 en la córnea central y periférica ^{Oyster 1999}, respectivamente. Las células endoteliales son poligonales siendo las hexagonales las más frecuentes, aproximadamente entre el 70-80% de todas las células endoteliales en la córnea sana. Además de la densidad celular, dos índices describen el estado del endotelio: la variabilidad del área celular, conocida como polimegatismo y la variabilidad de la forma conocida como hexagonalidad ó pleomorfismo. Estos índices están afectados por el grado de patología, edad, traumatismo y uso prolongado de lentes de contacto; en todos los casos se pierden células y se produce una migración y expansión de las células supervivientes de manera que disminuye el valor de la hexagonalidad y aumenta la variabilidad y el tamaño del área celular. Lo anterior se produce debido a que estas células no proliferan en humanos y al no existir regeneración celular, las uniones gap deben ser ocupadas por expansión y migración celular. Las nuevas matrices tienen 2 características en común: más células de 5 o 7 lados y más variabilidad en el tamaño, esto es más pleomorfismo y más polimegatismo. El coeficiente de variación del área celular (polimegatismo) es más sensible al grado de disfunción endotelial mientras que el índice de hexagonalidad informa sobre el progreso de la cicatrización endotelial. La pérdida o daño de las células endoteliales producen

un aumento de la absorción de agua por el estroma corneal, es decir inducen un edema estromal y/o epitelial. De esta manera el espesor de la córnea proporciona un índice de la función biológica del endotelio.

La función más importante del endotelio es regular el contenido de agua en el estroma corneal. Las células endoteliales interdigitan y contienen varias uniones complejas incluyendo zonula ocluden, macula occludens, uniones gap y macula adherens. Estas interconexiones proporcionan una barrera débil al humor acuoso y permiten el paso de pequeñas moléculas desde la cámara anterior ^{Hirsh 1977, Olsen 1979}. Por otro lado, el metabolismo de las células endoteliales es muy activo y su actividad esta asociada a bombas que mueven iones a través de las membranas celulares, siendo una consecuencia de esta bomba de iones el movimiento de agua desde el estroma corneal al humor acuoso. La importancia de esta actividad se comprueba mediante su inhibición que resulta en un engrosamiento estromal y una disminución de la transparencia. La debilidad de la membrana endotelial se compensa por la habilidad de la bomba de agua activa hacia el exterior de la córnea.

1.2 Estroma

El estroma (Fig. 2.4) constituye el 90% del espesor de la córnea ^{Nishida 1997} y es un sándwich entre dos capas, el epitelio y el endotelio. El estroma corneal consiste de una matriz extracelular formado por fibroblastos (queratocitos) y fibras nerviosas. Los componentes celulares ocupan solo un 2-3% del volumen total del estroma ^{Otori 1967}. El colágeno constituye más del 70% del espesor de la córnea.

Un fibroblasto individual tiene un cuerpo celular largo y aplanado con numerosos filamentos de actina que le confieren aspecto de araña. En cultivos, normalmente crecen hasta que sus filamentos se tocan y cubren toda la placa de cultivo formando una malla irregular de células y filamentos. Esta propiedad permite a la célula contraerse y ser responsable del mantenimiento de la forma corneal y de la estructura de la lámina de colágeno. La forma y función de los queratocitos (Fig. 2.5) esta regulada por el medio extracelular. Cuando se

produce un daño persistente en el epitelio, los queratocitos se activan y pueden contribuir a disolución estromal por aumentar la síntesis y la secreción de las enzimas que degradan el colágeno. La exposición de queratocitos a serum produce la adopción irreversible de características biológicas de queratocitos activados.

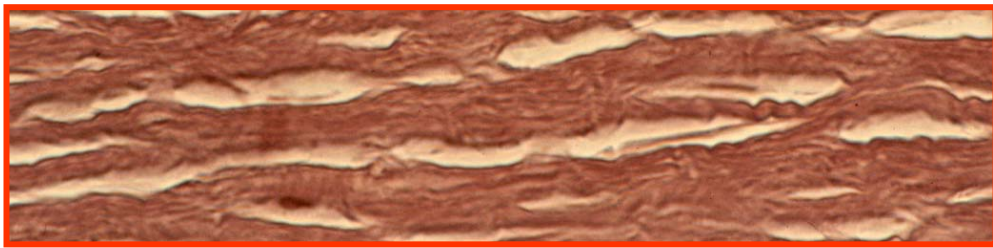


Figura 2. 4 Aspecto del estroma obtenido por MO (40X).

Cortesía del Grupo Investigación Básica del Instituto Oftalmología Ramón Castroviejo. Tinción Unna-Tanzer

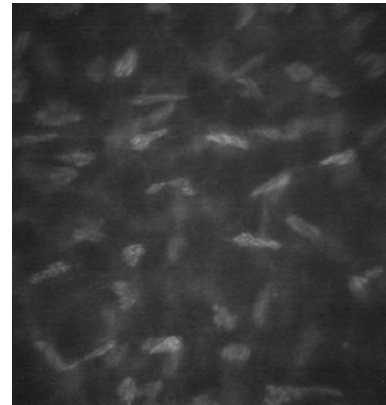
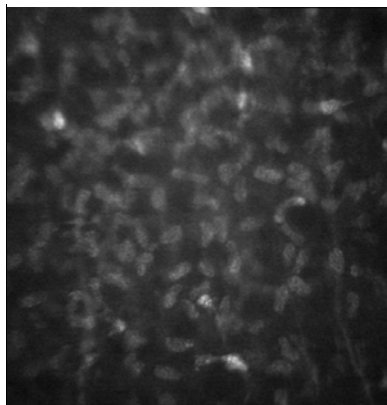


Figura 2.5 Aspecto de los queratocitos del estroma corneal anterior (izquierda) y posterior (derecha). Imágenes obtenidas con microscopía confocal por Amelia Nieto

El colágeno es una proteína fibrosa que se encuentra en todo el cuerpo siendo el componente principal de todos los tejidos conectivos, tendones, ligamentos, piel y de la capa externa del ojo, entre otros. Aproximadamente el 25% de todas las proteínas del cuerpo son colágeno haciendo que sea la proteína más común de todas. La disposición regular de las fibras de colágeno así como su producción lenta y constante es el factor principal para mantener la transparencia corneal; el contenido en agua en la matriz necesita mantenerse

dentro de unos límites muy estrechos para conservar el espaciado regular y constante. Por otro lado, las uniones entre las moléculas de colágeno es otra variable que afecta a la fuerza de todo el tejido. Las fibras forman unas 300 láminas de colágeno ^{Nishida 2005} dispuestas unas encima de otra y representan el 90% del espesor y volumen de la córnea. Cada lámina recorre la córnea paralela a su superficie de limbo a limbo. El colágeno y los proteoglicanos de la córnea presentan una regeneración baja que requiere de 2 a 3 años siendo producidos por los queratocitos situados entre las láminas de colágeno. Estas células mantienen el contenido proteico y la organización del colágeno y de la matriz. Si es necesario, los repara después de un traumatismo pero no regulan el contenido en agua del estroma, que requiere otros sistemas.

El endotelio y el epitelio corneal son dos capas imprescindibles en el funcionamiento fisiológico de la córnea. Su importancia es fácilmente demostrable viendo lo que sucede después de un daño accidental o experimental de una ó ambas capas: aparece un área lechosa en la zona dañada que será más visible si el tejido dañado es el endotelio y que origina una disminución de la transparencia corneal y un aumento del espesor corneal fruto del incremento del contenido en agua del estroma. Tanto el epitelio como el endotelio juegan un importante papel en el mantenimiento de las actividades biológicas de los queratocitos y de la disposición de las fibras de colágeno mediante la regulación del contenido en agua del estroma. Así, las células epiteliales, los queratocitos y las células endoteliales funcionan de forma organizada para asegurar la transparencia corneal.

1.3 Membrana de Bowman

La capa de Bowman es la parte más anterior del estroma corneal y está situada detrás de la lámina basal del epitelio. Mide unas 12 micras de espesor; se reconoce en secciones histológicas por su carencia de fibroblastos y aparente estructura oscura, además es reconocible por microscopía electrónica y confocal. Esta estructura acelular no es una membrana sino el lugar de unión de las fibras de colágeno y proteoglicanos y en ella las fibras de colágeno no siempre corren paralelas a la superficie corneal perdiéndose la estructura

laminar regular. Esta capa no se regenera después de una lesión sin embargo incluso en su ausencia se forma un epitelio normal. Muchos mamíferos no tienen esta capa y sin embargo presentan un epitelio bien organizado. En la actualidad, su papel fisiológico no está claro.

1.4 Sistema Sensorial

Como la parte del ojo mas expuesta al traumatismo, la córnea presenta un sistema sensorial bien desarrollado. La sensibilidad a la presión de la córnea es muy alta, muchas veces mayor que la de la piel y 10 veces más que la de la yema de los dedos. Aunque algunas fibras nerviosas del plexo subbasal (Fig. 2.6) terminan en el estroma, la gran mayoría de las terminales nerviosas están en el epitelio, muy cercanas a su superficie. La densidad de terminaciones nerviosas es extremadamente alta. Estudios de microscopía electrónica informan de la presencia en media de una terminación por cada 20 micras² de la córnea lo que equivale a 2500 terminaciones por mm². Dado que la superficie de la córnea es aproximadamente 130 mm² existen mas de 325.000 nervios que finalizan en el epitelio. En el epitelio entran aproximadamente 2000 fibras nerviosas procedentes de los nervios ciliares largos que recorren en bandas el estroma. Las fibras nerviosas abandonan las bandas al llegar al epitelio dirigiéndose hacia la superficie donde se rompen en un spray de terminaciones nerviosas finales. En el epitelio corren individuales y paralelos a la superficie corneal.

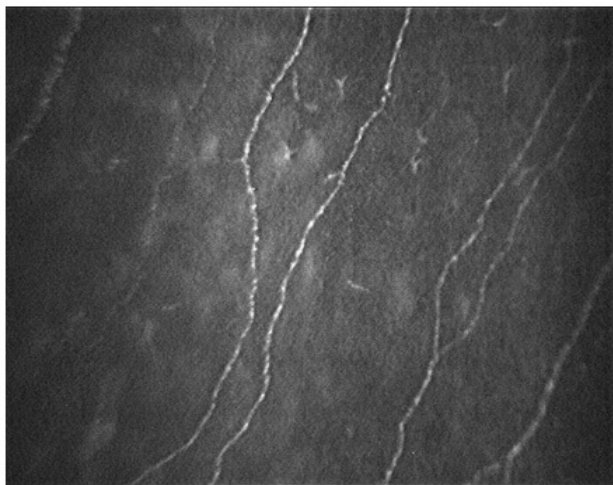


Imagen obtenida con microscopía
confocal por Amelia Nieto

Figura 2.6 Aspecto del plexo nervioso subbasal sobre
el fondo de la membrana de Bowman.

1.5 Epitelio

El epitelio corneal y conjuntival conforman conjuntamente la superficie ocular anterior. Aunque sus características difieren entre sí, ambos proporcionan un sistema de biodefensa de la superficie anterior del ojo ^{Sack et al. 2001}.

El epitelio corneal (Fig 2.7) consiste en 6-8 capas de células epiteliales escamosas estratificadas y no queratinizadas dispuestas unas encima de otras, con un espesor central de aproximadamente 50 micras y constante por toda la superficie corneal. Esta capa representa un 10% del espesor total de la córnea. La córnea presenta 3 tipos de células epiteliales: superficiales, intermedias y basales (Fig. 2.8). Estas células difieren en su morfología. En secciones obtenidas mediante microscopía confocal, las células superficiales aparecen de forma plana y poligonal generalmente con núcleo evidente y con bordes bien definidos. Su superficie está cubierta por microvilli formando el micropliqueae ^{Pfister 1973}. La microscopía electrónica revela 2 tipos de células superficiales: unas oscuras y grandes y otras pequeñas y claras. A microscopía confocal, las células basales son de forma cuboidal, pequeñas con mayor densidad, sin núcleo y con bordes bien definidos. Las intermedias presentan características en el límite de las dos anteriores ricas en filamentos intracelulares compuestos de queratina.

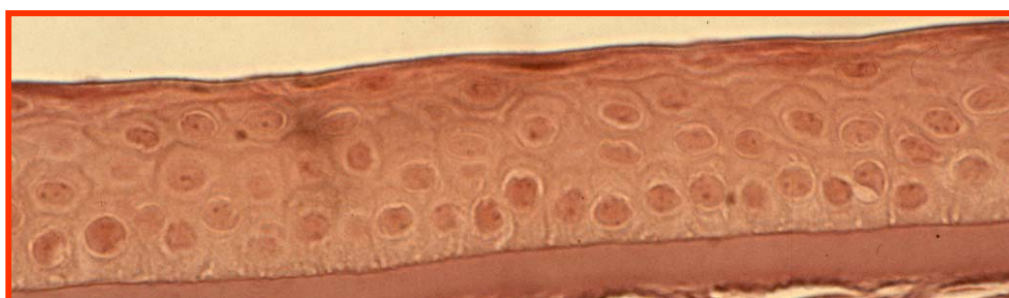


Figura 2.7. Aspecto del epitelio obtenido por MO (40X).

Cortesía del Grupo Investigación Básica del Instituto Oftalmología Ramón Castroviejo. Tinción Unna-Tanzer

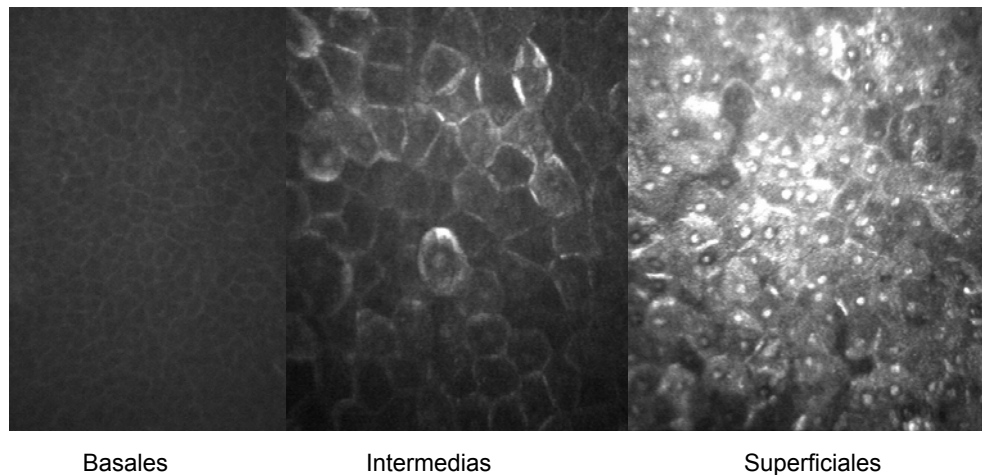


Figura 2. 8 Aspecto de las células del epitelio corneal
Imágenes obtenidas con microscopía confocal por Amelia Nieto

La capa única de células basales está unida a su membrana por hemidesmosomas y a sus células vecinas, por desmosomas. Las membranas de las células intermedias interdigitan y se unen por desmosomas y uniones gap. Las células superficiales están unidas entre sí y a las células intermedias, por desmosomas y uniones estrechas (tight junction). Estas uniones previenen el paso de sustancias a través del espacio intercelular.

El epitelio junto con la película lagrimal contribuye al mantenimiento de la homogeneidad óptica de la superficie corneal. La pérdida de homogeneidad de la superficie epitelial resulta en degradación de la imagen óptica y produce visión borrosa. Otro importante papel del epitelio es proporcionar una barrera a agentes biológicos externos y productos químicos. La presencia de complejas uniones entre las células epiteliales adyacentes previene el paso de dichas sustancias a capas más profundas de la córnea. Defectos en el epitelio permiten la penetración del fluido lagrimal al estroma produciendo un edema que interfiere en la transmisión de la luz. Dado que el epitelio es la barrera externa de la córnea es susceptible de lesión por trauma o infección microbiana. La renovación rápida de las uniones intercelulares ayuda a la protección de la córnea.

Las células epiteliales son activas y requieren glucosa y oxígeno para el mantenimiento de las funciones metabólicas normales de la córnea^{Riley et al. 1969, Weissman et al. 1981}. La córnea obtiene la glucosa por difusión desde el humor acuoso, y el oxígeno por difusión de la lágrima, por tanto es esencial la exposición directa de la lágrima a la atmósfera para obtener el oxígeno necesario para la córnea. La falta de oxígeno produce hipoxia corneal y secundariamente un edema estromal. El cierre de los párpados durante el sueño reduce la cantidad de oxígeno que alcanza la córnea, produciendo un cambio en el metabolismo corneal de aeróbico a anaeróbico y, secundariamente, una acumulación de lactato^{Sack et al. 1992, Sack et al. 2000}.

Las células epiteliales se renuevan continua y rápidamente para mantener la estructura del epitelio. La capa interna de células basales son las únicas que proliferan y por tanto las más nuevas. A continuación, existen varias capas de células intermedias de forma irregular. Éstas fueron originalmente basales y con su renovación fueron empujadas hacia arriba, fuera de la capa basal. Por encima de las células intermedias existen varias capas de células escamosas ó superficiales que fueron intermedias y que pronto saldrán de la córnea a la lágrima^{Hanna et al. 1967} cubriendo la superficie anterior. El proceso de diferenciación de las células del epitelio (nacen – basales-, se transforman -intermedias- y mueren -superficiales-) requiere de 7 a 14 días. La transformación morfológica que se produce de células columnares a cuboidales y a escamosas se conoce como apoptosis (muerte celular programada) y este proceso comienza cuando las células basales son empujadas a la capa de intermedias. Su secuencia de cambio morfológico y muerte celular es inevitable. Se ha demostrado un movimiento centrípeto de las células epiteliales así como el hecho de que las células basales son las únicas capaces de proliferar. La teoría XYZ^{Thoft et al. 1983} propone la existencia de un equilibrio entre el movimiento centrípeto, la diferenciación de células basales en superficiales y la descamación de las células a la superficie corneal. La presencia de células muertas en la superficie corneal no es un problema si su presencia es debida a la apoptosis; sin embargo, si su presencia es debida a traumatismo o infección, el proceso es conocido como necrosis y hace que las células mueran más deprisa al movilizar reacciones inflamatorias por los

agentes químicos que se expulsan a la lágrima. Radiación UV, hipoxia o stress mecánico inducen apoptosis y la descamación de las células epiteliales ^{Nishida 2005}.

Las múltiples capas celulares del epitelio, los varios tipos de uniones celulares y, particularmente, las uniones estrechas (tight) entre células superficiales y la interdigitación entre los procesos celulares, crean un espacio extracelular largo y tortuoso contribuyendo a hacer una barrera fisiológica efectiva para evitar el paso de agua de la lágrima al estroma.

2. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA CELULAR

No es objetivo de este apartado estudiar en profundidad los diferentes métodos de evaluación de la morfología celular, dado que es un campo de especialización muy amplio, sin embargo se pretende aportar un panorama global de estas técnicas y profundizar en las utilizadas en esta investigación.

La morfología celular se explora fundamentalmente con microscopía óptica, microscopía electrónica y microscopía óptica confocal ^{Hibbs 2000}. Las células de cualquier ser vivo pueden estudiarse en dos condiciones: vivas o muertas. El estudio de las células muertas se realiza cuando el animal muere y por diferentes técnicas bioquímicas (fijación) se consigue la conservación de la célula y los tejidos en un estado lo más similar en morfología y composición química al estado vivo. Los tejidos se colocan en secciones (cortes histológicos) que son diferentes en espesor en función de que su valoración posterior vaya a realizarse con microscopía óptica ó microscopía electrónica. También existen múltiples técnicas que permiten el estudio de la composición química del interior de la célula. El estudio de las células vivas (método “in vivo”) se realiza a organismos celulares en su estado natural para este fin, se suelen utilizar colorantes vitales. El método “in vitro” estudia al organismo vivo pero colocado en condiciones artificiales; para ello se separan las células y se colocan sobre un sustrato denominado medio de cultivo donde se mantienen con vida durante el estudio, conocido como cultivo celular ^{Paddock 1999}.

El microscopio óptico es un instrumento de gran utilidad, sobre todo en los campos de la ciencia en donde la estructura y la organización microscópica es importante, incorporándose con éxito a investigaciones dentro del área de la química (en el estudio de cristales), la física (en la investigación de las propiedades físicas de los materiales), la geología (en el análisis de la composición mineralógica de algunas rocas) y, por supuesto, en el campo de la biología (en el estudio de estructuras microscópicas de la materia viva), por citar algunas disciplinas de la ciencia. La potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. Sin embargo, el microscopio electrónico utiliza electrones para iluminar un objeto. Dado que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos: el microscopio electrónico de transmisión (MET) y el microscopio electrónico de barrido (MEB).

El MET permite la observación de la muestra en cortes ultrafinos. Los microscopios electrónicos de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces. Con el MEB no es necesario cortar el tejido en capas para observarlo sino que puede colocarse en el microscopio con muy pocos preparativos. El MEB explora la superficie de la imagen punto por punto, al contrario que el MET que examina una gran parte de la muestra cada vez. Los MEB pueden aumentar los objetos aproximadamente 200.000 veces y permite producir imágenes tridimensionales, lo que supone una ventaja adicional. Para finalizar este apartado es importante mencionar que la microscopía óptica confocal (que por ser la tecnología utilizada en esta investigación trataremos en mayor profundidad en el siguiente apartado) no puede alcanzar los niveles de resolución del MET, sin embargo presenta 2 ventajas importantes:

- la preparación de las muestras es más simple, rápida y barata y
- la posibilidad de realización de estudios “in vivo”.

2.1 Microscopía Confocal

La microscopía óptica confocal es una técnica de uso reciente que permite obtener cortes ópticos seriados de forma no invasiva en organismos vivos ^{Sánchez}. Esta tecnología (Fig. 2.9) supone una mejora sustancial a las técnicas clásicas de microscopía óptica, resultando de gran interés para diversas ramas de la ciencia tales como medicina, biología, geología, etc. Su éxito se debe a la obtención de imágenes de mayor nitidez y contraste, mayor resolución vertical y horizontal y a la posibilidad de obtener “secciones ópticas” de la muestra, permitiendo su estudio tridimensional. En las técnicas clásicas de observación en microscopía óptica, la luz interacciona con la muestra a varias profundidades por lo que la imagen que llega al observador presenta áreas borrosas debido a la luz procedente de zonas fuera del plano de enfoque, lo que produce una degradación en el contraste y resolución de la imagen. El principio de la microscopía óptica confocal se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para ello se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces de luz procedentes de los planos inferiores y superiores. En términos amplios, el principio óptico de la microscopía confocal es que se sacrifica el campo de visión en aras de una resolución óptima.

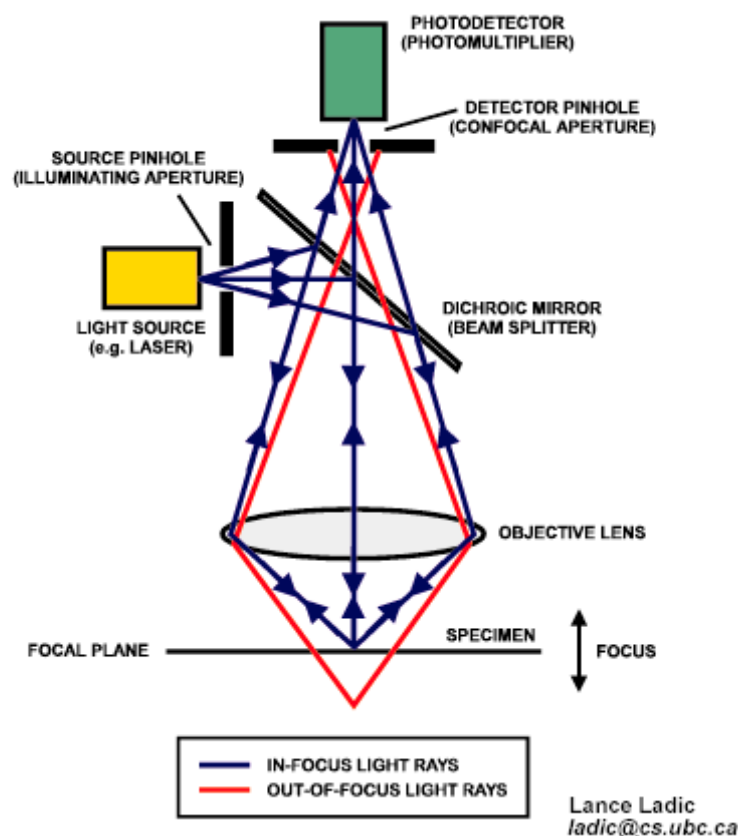


Figura 2.9 Óptica simplificada de un LSCM

La microscopia confocal (MC) fue inventada por Minsky ^{Minsky 1988} en 1955 quien patentó un instrumento en 1957 que permitía observar redes neuronales del tejido nervioso del cerebro de un sujeto in vivo. Su diseño original (Tandem Scanning Confocal Microscopy, TSCM) se basaba en la presencia de dos “pinhole”: uno situado entre la fuente de luz y el objetivo, y otro entre el objetivo y un fotomultiplicador. Ambos debían estar perfectamente alineados (confocalizados), de manera que el segundo de ellos no dejara pasar al fotomultiplicador toda la luz “fuera del plano focal”, que es la base de todo sistema confocal. Sin embargo, la tecnología aún no disponible por entonces no le permitió demostrar todo el potencial de esta nueva técnica de microscopía, sobre todo en lo referente a muestras biológicas. El desarrollo de la tecnología láser, de la informática y de los sistemas de adquisición digital de imagen ha permitido conocer todas las posibilidades de la MC e implantar su uso generalizado en el campo de la Biología durante los últimos veinte años.

Básicamente existen las siguientes técnicas de microscopía confocal: 1) De un único haz o punto de iluminación, que requieren un sistema de barrido de la preparación y del que existen dos modalidades: el Láser Scanning Confocal Microscopy (LSCM) y el Stage (Slit) Scanning Confocal Microscopy (SSCM); 2) Multi-haz, que incluye Disc Scanning Confocal Microscopy (DSCM) (de “Escaneo de disco”).

La posibilidad de utilizarlo en la clínica oftalmológica se produce a mediados de los 90, gracias a la introducción del sistema de escaneado en hendidura ^{Masters & Thaeer 1994} y más recientemente por los instrumentos con escaneado láser. Los dos instrumentos disponibles comercialmente para la evaluación corneal son dos tecnologías distintas. Uno de ellos, de tecnología SSCM que funciona mediante el escaneo de una hendidura sobre el plano focal posterior del objetivo. La hendidura puede variar con el fin de optimizar el equilibrio entre la sección óptica y el brillo de la imagen. El instrumento emplea un objetivo de inmersión que no toca la córnea. La alta apertura numérica del objetivo es muy eficaz para coleccionar luz desde estructuras corneales con débil reflectividad lo que permite distinguir las células epiteliales no observables con los primeros diseños (TSCM). Esta tecnología está disponible en el ConfoScan4 (NIDEK Co, Italy). El segundo instrumento de tecnología LSCM (Fig. 2.9) funciona escaneando secuencialmente áreas corneales por un punto láser menor de 1 micra de diámetro. Un instrumento comercialmente disponible es el Heidelberg Retina Tomograph 3 con el módulo corneal de Rostock (Heidelberg Engineering, GMBH, Germany).

La MC proporciona imágenes de secciones corneales en tiempo real y de manera no invasiva. Según Javaloy ^{Javaloy et al. 2005} la transparencia óptica de la córnea proporciona una oportunidad única de aplicar esta tecnología ya que reúne las ventajas más importantes para el estudio de la cicatrización tras la cirugía refractiva corneal: elevada magnificación, nula invasividad, información patológica “in vivo” y resolución axial y lateral no alcanzable con cualquier otra técnica de microscopía óptica. Es importante resaltar que incluso en ojos con opacidades corneales importantes se puede observar patologías endoteliales con suficiente contraste. También otros estudios ^{Kaufman et al. 2004} ponen de

manifiesto que la microscopía confocal es una tecnología imprescindible en medicina y, en particular, en la córnea debido a que la transparencia de las estructuras del ojo proporciona una oportunidad única para su aplicación. Todo lo anterior hace que su utilización en oftalmología se haya convertido en habitual.

Diferentes estudios han descrito y cuantificado las células en las diferentes capas corneales en córneas normales, patológicas y en las que ha sido sometidas a cirugías oculares. Los estudios indican que en la córnea humana sana existe variabilidad fisiológica en morfología, tamaño y densidad de las diferentes poblaciones celulares, sin embargo no se han descrito diferencias de estas variables entre hombres y mujeres ó entre ojos derechos e izquierdos ^{Mastropasqua & Nubile 2002}. Otros autores ^{Kobayashi et al. 2006} han estudiado la córnea central y periférica, especialmente el epitelio, la capa de Bowman y el estroma adyacente mediante la microscopía confocal informando por primera vez de la presencia de estructuras polimórficas compuestas de materia fibrilar que podrían ser responsables del mosaico corneal anterior. Eckard et al. ^{Eckard et al. 2006} han descrito la densidad celular central y periférica del epitelio corneal en sujetos sanos. Zhivov et al. ^{Zhivov et al. 2007} han informado recientemente de la distribución y cuantificación de las células epiteliales de Langerhans en sujetos sanos y en usuarios de lentes de contacto, encontrando que los usuarios de lente de contacto presentan el doble de densidad celular tanto en el centro como en la periferia de la córnea lo que suponen debido a la irritación mecánica. De este modo, la microscopía confocal utilizada para el análisis de la córnea “in vivo” permite la valoración histológica de secciones ópticas de 10-20 micras mediante la observación de imágenes de todas las capas corneales (epitelio corneal superficial, epitelio basal, membrana de Bowman, plexo nervioso subepitelial, estroma, membrana de Descement y endotelio) y medir el espesor de cada una de ellas.

En resumen, la microscopía confocal ocular permite la observación directa de las distintas capas corneales incluyendo su distribución celular y la medida del espesor de dichas estructuras. Por su relación con el estudio que nos ocupa se destaca que en el epitelio se pueden distinguir las células

superficiales, las basales y las intermedias; en el estroma se pueden observar los queratocitos permitiendo su conteo por áreas. El endotelio es perfectamente identificable pudiendo observarse sus células, obtener la densidad celular y los índices que definen la fisiología de esta capa. Asimismo es visible la membrana de Bowman, la capa de fibras nerviosas y la membrana de Descemet. Todo ello permite la observación y el análisis de posibles cambios de las estructuras corneales tanto en su espesor como en su distribución celular en las dos técnicas de reducción de la miopía que se comparan en el presente estudio.

3. ORTOQUERATOLOGÍA

La primera referencia del término ortoqueratología fue en el Congreso de la Sociedad Internacional de Especialistas de Lentes de Contacto de 1962 ^{Mountford, 2004}. La ortoqueratología es una técnica que utiliza lentes de contacto especialmente diseñadas y adaptadas al ojo con el fin de modificar el contorno corneal induciendo un aplanamiento en la región central de la córnea, modificando así el estado refractivo del mismo. El efecto buscado es similar al de la cirugía refractiva salvo que con este sistema el efecto inducido es reversible. Según Villa y González-Méijome ^{Villa & González-Méijome 2007} las primeras referencias a la modificación no quirúrgica de la curvatura corneal se remontan 300 años atrás, a la cultura china. Swarbrick et al. ^{Swarbrick et al. 2004} indica que un precursor de la ortoqueratología moderna es la propuesta de Kalt en 1888 quien adaptaba lentes de vidrio planas en córneas con queratocono para reducir la miopía secundaria a la ectasia. La ortoqueratología actual se inició en los años 60 con Jessen ^{Jessen 1962} quien desarrolló la técnica de ortofocus conocida como técnica de la lente neutra para tratar de conseguir los efectos deseados sobre la córnea. Esta técnica utilizaba una lente de PMMA sin potencia, adaptada más plana que la curvatura corneal consiguiendo la reducción de la miopía gracias a la película lagrimal existente entre la córnea y la lente. Esta técnica no prosperó puesto que aunque la lente utilizada inducía cambios rápidamente sobre la córnea resultaba muy poco estable e inducía muchos astigmatismos. Durante las siguientes décadas, varios seguidores de esta técnica trataron de

mejorarla para lo cual introdujeron modificaciones en el diseño de la lente de contacto con la intención de obtener un mayor centrado y estabilidad de la misma. Estas lentes se utilizarían durante el día permitiendo periodos en los que sería posible prescindir de ellas. Los resultados encontrados resultaban bastante variables e impredecibles. Además, los cambios inducidos se producían demasiado lentamente sobre la córnea. Lo más interesante de todos estos estudios es que se había puesto de manifiesto el hecho de que adaptar lentes de contacto ligeramente más planas que la curvatura corneal inducía aplanamiento y reducción de la miopía ^{Nolan 1972}. Durante la década de los 70 y los 80, científicos estudiosos del área desarrollaron estudios clínicos que permitieron poner de manifiesto la bondad y las limitaciones evidentes de la técnica. Así, Kerns ^{Kerns 1976} adaptó lentes de contacto PMMA con diámetros grandes y radio más plano que K (radio más plano de la córnea). Los resultados que encontró mostraban pocas diferencias en cuanto a la reducción de la miopía lograda tras 3 meses de uso de estas lentes (reducción de $0.77 \pm 0.91D$) frente a las lentes de uso convencional (reducción de $0.23 \pm 0.48D$). Blinder et al. ^{Blinder et al. 1980} utilizaron lentes de similares características a las utilizadas por Kerns ^{Kerns 1976} pero realizaron un estudio a más largo plazo (18 meses). Los resultados encontrados muestran una disminución en la miopía de aproximadamente 1.24D de media aunque los resultados eran impredecibles así como el efecto sobre cada individuo. El estudio más relevante elaborado durante estos primeros años fue el desarrollado por Polse et al. ^{Polse et al. 1983} quienes, tras 18 meses de tratamiento, encontraron una reducción más significativa de la miopía en el grupo de usuarios de lentes ortoqueratológicas ($1.01 \pm 0.87D$) frente a una reducción de ($0.54 \pm 0.58D$) en el grupo de usuarios de lentes PMMA. Concluyeron además que si bien el procedimiento de ortoqueratología tenía un efecto limitado, resultaba válido para el objetivo buscado. El último estudio desarrollado durante esta etapa de nacimiento de la ortoqueratología fue elaborado por Coon ^{Coon 1984} quien evaluó la técnica de Tabb's consistente en utilizar lentes de PMMA ligeramente más planas que K manipulando la zona óptica de dichas lentes con el fin de inducir un mayor aplanamiento y reducción de la miopía. Tras 18 meses de estudio se encontró una reducción de la miopía con esta técnica de $1.30 \pm 0.89D$. En resumen, durante estas décadas se encontró que la técnica de Ortoqueratología inducía

una reducción en la miopía pero que los resultados alcanzados resultaron ser muy modestos y no demasiado diferentes de los encontrados con una lente de PMMA convencional. Además, los resultados eran muy variables e impredecibles y se necesitaban varias lentes y bastante tiempo para alcanzar los resultados, motivo por el que durante los siguientes 20 años se ralentiza tanto la actividad clínica como científica en esta área.

El resurgimiento de la ortoqueratología experimentado hacia los años 90 ha venido asociado al desarrollo tecnológico sufrido tanto a nivel de diseño y nuevos materiales para las lentes como en el desarrollo de nuevos dispositivos que permiten conocer más en detalle los cambios inducidos sobre la córnea. El uso de los topógrafos corneales se ha convertido en una herramienta básica para el seguimiento de un tratamiento ortoqueratológico. Así mismo, si bien inicialmente las lentes utilizadas eran de PMMA, el paso al uso de lentes rígidas gas permeable y finalmente a lentes rígidas fabricadas con polímeros con mayor permeabilidad al oxígeno (alto Dk) han permitido su uso mientras el ojo permanece cerrado. Paralelamente, el desarrollo más importante y que ha desencadenado un mayor interés por esta técnica ha sido la aparición de un nuevo diseño para la lente utilizada en este tratamiento. Se trata de las lentes de Geometría Inversa. Su diseño ya fue anunciado en los años 60 por Jensen ^{Jensen 1960}, y en los 70 por Fontana ^{Fontana 1972} aunque su desarrollo no fue posible debido a la falta de tecnología necesaria para su desarrollo. Así pues, fueron Wlodyga y Stoyan ^{Wlodyga & Stoyan, 1992} en los años 90 quienes impulsaron de nuevo la ortoqueratología probando que el uso de lentes de contacto de geometría inversa (Fig. 2.10, Tabla 2.1) conseguía cambios rápidos en el error refractivo miópico sin problemas asociados de descentramiento, es decir consiguieron mejorar los problemas existentes, en concreto, los relacionados con la baja predictibilidad de la técnica, la limitación de la corrección y las irregularidades corneales inducidas. Esta nueva técnica de realizar la Ortoqueratología se bautizó como *Ortoqueratología acelerada* debido a que los cambios inducidos sobre la córnea se realizaban en un periodo de tiempo sustancialmente menor que con el diseño convencional.

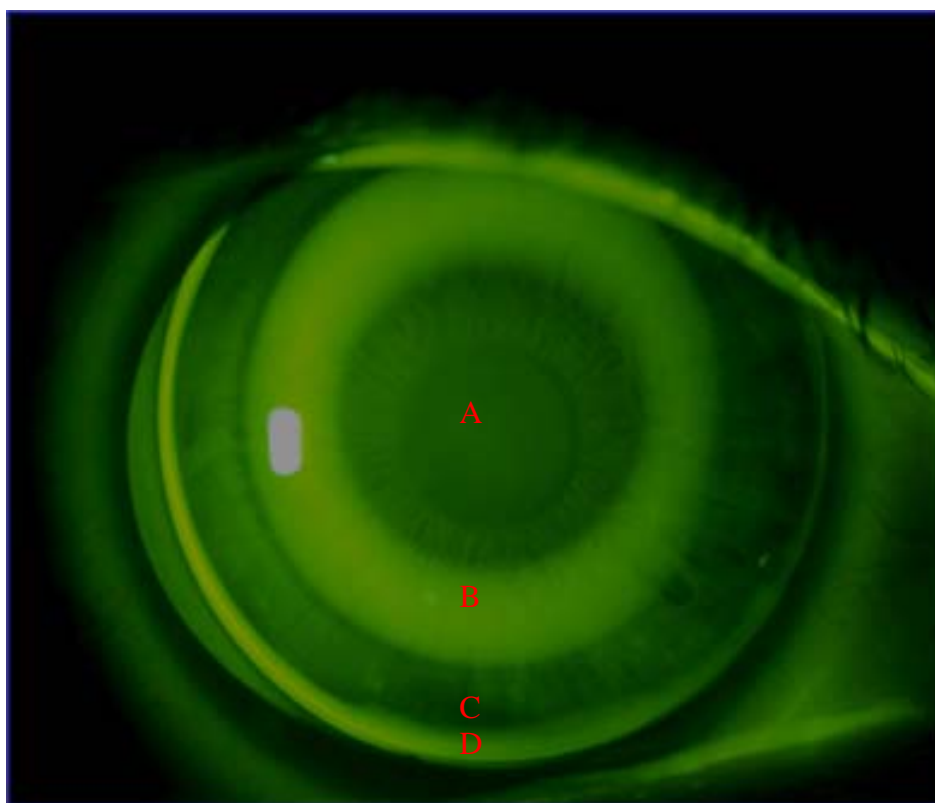


Figura 2.10: Fluorograma de un ojo con lente de geometría inversa (CRT)

Imagen obtenida por Amelia Nieto

Tabla 2.1 Parámetros de la lente CRT y su relación con el fluorograma			
Parámetros de la lente CRT		Correspondencia con Fluorograma	
Zona óptica	(4.00mm)	Círculo central	(A)
Zona de retorno	(3-3.5mm)	Anillo de retorno lagrimal	(B)
Banda de alineamiento (3-3.5mm)		Anillo de apoyo	(C)
		Levantamiento de borde	(D)

El radio de la zona óptica (A) ha de ser mayor de 2mm y como máximo de 3 mm por lo que el diámetro del anillo de retorno lagrimal pueda variar.

Actualmente, la ortoqueratología nocturna es la técnica más efectiva en cuanto a la disminución del grado de corrección y se consigue una buena agudeza visual sin compensación óptica durante el día, en un menor periodo de tiempo y es más estable que la terapia diurna. Lo anterior ha sido posible gracias a la combinación del uso nocturno con lentes de doble geometría inversa y geometría sigmoidal^{Walline et al. 2005, Sorbara et al. 2005}. En la actualidad, la ortoqueratología nocturna está siendo utilizada en todo el mundo para la corrección de miopías bajas o moderadas con diseños de lentes cada vez más adaptados a las necesidades del tratamiento con alta permeabilidad. Son numerosos los estudios que han validado el uso de esta técnica de terapia refractiva corneal encontrando reducciones de hasta 3.33 dioptrías de media e incluso disminuciones individuales de hasta 5 D^{Berntsen 2005}. Actualmente, la actividad clínica y científica en esta área es intensa, sirva como ejemplo los 34 artículos publicados durante el año 2009 sobre CRT y OKN en revistas con índice de impacto en el área de oftalmología. El interés de los anteriores paper están centrados en diversas áreas, entre ellas las mas estudiadas son la eficacia de la técnica en el control de la miopía^{Lotoczky et al. 2009, Peter et al. 2010, Lin et al. 2010, Szczotka et al. 2010, Downie et al. 2009, Walline et al. 2009}, incidencia de queratitis microbiana e infecciones corneales^{Cho et al. 2009, Kim et al. 2009, Choo et al. 2009, Shehadeh-Mashaour et al. 2009}, calidad óptica^{Hiraoka et al. 2009, Wu et al. 2009, Hiraoka et al. 2009, Mathur et al. 2009, Villa-Collar et al. 2009}, nuevos diseños y eficacia en casos con astigmatismo^{Caroline et al. 2009, Cheung et al. 2009}, ortoqueratología en hipermetropía^{Gifford 2009 et al.}, sensibilidad corneal^{Hiraoka et al. 2009}, biomecánica corneal^{Cheng et al. 2009} y cambios en la cara posterior de la córnea^{Chen et al. 2010}. El resto de los 34 artículos son revisiones, estudios de satisfacción y sistemas de limpieza. Además, 3 cubren aspectos en común con esta investigación. Uno de ellos^{Reinstein et al. 2009} aborda el tema sobre un único caso y no puede considerarse un estudio. Savitsky^{Savitsky et al. 2009} estudia la permeabilidad de la barrera del epitelio por fluorometría y, solo uno^{Zhong et al. 2009} desarrolla un estudio similar al presente, sin embargo es de diseño retrospectivo. Por lo tanto, en la actualidad continúa sin existir un estudio publicado que cubra los objetivos de la presente tesis: los posibles cambios en la morfología corneal inducidos por OKN utilizando lentes CRT en periodos largos de tiempo y su recuperación.

III. METODOLOGÍA GENERAL

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño consistió en un estudio prospectivo y longitudinal con una duración de 13 meses desde el comienzo del tratamiento. En los primeros 12 meses se estudiaron los cambios en un largo periodo de tiempo y en el mes decimotercero, la recuperación de los mismos. Los sujetos participantes del grupo de tratamiento con ortoqueratología nocturna y del grupo control fueron alumnos voluntarios de la Universidad Complutense de Madrid siendo todos ellos informados de las características y objetivos del estudio clínico. La elección de los participantes se realizó de acuerdo a los criterios de inclusión y a su interés en participar en el tratamiento objeto del estudio. Los participantes del grupo intervenido con cirugía refractiva corneal miópica (láser keratomileusis in situ, LASIK) fueron pacientes consecutivos y voluntarios de Clínicas Novovisión. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Carlos III.

1.1 Criterios de inclusión

1. Sujetos de ambos sexos con edades comprendidas entre 18 a 30 años. En grupo LASIK entre 21 a 40 años.
2. Refracción ocular de entre -0.50 D y -6.0 D. de miopía con ó sin astigmatismo. Se estableció una magnitud máxima para el astigmatismo corneal de 1.00 D. El estado refractivo considerado fue el de la refracción manifiesta determinada con el foróptero en el momento del comienzo del estudio.
3. Agudeza visual compensada de al menos 0.04 logMAR en cada ojo.
4. Los participantes no podían haber usado lentes de contacto semirrígidas. Se permitió la participación a los usuarios de lentes hidrofílicas aunque condicionado a dejar de usar las lentes 4 semanas antes del comienzo del estudio.
5. Los participantes debían ser capaces de acudir a consulta en las fechas acordadas para el seguimiento del estudio: 15 días, 1 mes, 3, 6, 12, meses y un mes después (13) de finalizado el tratamiento ortoqueratológico.

1.2 Criterios de exclusión

1. Mujeres embarazadas o con intención de tener hijos durante el periodo de estudio.
2. Sujetos con enfermedades sistémicas u oculares.
3. Sujetos con historia de cirugía ocular, blefaritis, erosión recurrente, síndrome de ojo seco, neovascularización > 1mm desde el limbo ó con PIO > 21 Hg.
4. Sujetos con evidencia de queratocono, irregularidad corneal.
5. Sujetos con pupilas mayores de 5.5mm en iluminación fotópica.
6. Sujetos que estuviesen participando en otro estudio clínico.

1.3 Población

La población analizada en esta investigación consta de 78 sujetos: 53 jóvenes estudiantes de la Universidad Complutense de Madrid y 25 pacientes de la clínica Novovisión de Madrid. Para conocer el número de sujetos necesarios se realizó una estimación poblacional en base a la densidad de queratocitos del estroma corneal de acuerdo al análisis estadístico de “comparación de medias pareadas repetidas en un grupo. El cálculo poblacional se hizo con el programa estadístico Granmo 5.2; este software de uso publico fue desarrollado por el Institut Municipal d’Investigació Mèdica (http://www.imim.es/ofertadeserveis/es_softwarepublic.html). La comprobación reveló que eran necesarios 18 sujetos (ojos) para detectar una diferencia igual o superior a 100 unidades asumiendo una desviación estándar de 150, con un 95% de nivel de confianza (α) y una potencia del 80% (β)

El estudio siguió los criterios de Helsinki (<http://ohsr.od.nih.gov/guidelines/helsinki.html>) y cada participante, después de recibir una información pormenorizada sobre los objetivos y el desarrollo de la investigación, decidió participar voluntariamente y firmó un consentimiento informado. Los jóvenes participantes del grupo de OKN, además de por cumplir los criterios de inclusión en el mismo fueron seleccionados de acuerdo a su interés en la utilización de la técnica. Los exámenes visuales fueron

realizados entre junio de 2007 y abril de 2009. A los 78 sujetos se les evaluaron y analizaron ambos ojos, sin embargo para los análisis estadísticos únicamente se utilizaron los datos obtenidos en los ojos derechos como aconseja la bibliografía científica ^{Newcombe & Duff 1987}. Los 78 sujetos estaban subdivididos en 4 grupos:

- **Grupo 1:** 28 ojos derechos con CRT, para evaluar periodos cortos de tiempo (1 mes)
- **Grupo 2:** 15 ojos derechos con CRT, para evaluar periodos largos de tiempo (12 meses) y recuperación de los cambios (mes 13)
- **Grupo 3:** 10 ojos derechos sin tratamiento (grupo control, 1 mes)
- **Grupo 4:** 25 ojos derechos sometidos a LASIK evaluados (6 meses)

Los grupos 1 y 2 fueron los experimentales principales de esta investigación. Se comenzó el tratamiento CRT a 53 sujetos con miopía de leve a moderada. De éstos, 7 tuvieron que suspender el tratamiento antes de los 15 días debido a la aparición de queratitis superficial mayor de 2º, y otros 3 sujetos abandonaron por razones personales. Por tanto, los dos grupos finales fueron los siguientes: Grupo 1 formado por 28 sujetos que se comprometieron a participar durante 1 mes y su finalidad seguía evaluar los cambios en un periodo de tiempo corto (1 mes) en córnea central y periférica; Grupo 2 formado por 15 sujetos que se comprometieron a participar durante 13 meses de seguimiento y por tanto para la evaluación en un periodo de tiempo largo. Los sujetos fueron evaluados antes de usar OKN y a los 15 días, 1, 3, 6 y 12 meses durante su utilización. Asimismo, se evaluó la recuperación de los cambios mediante la evaluación a los 15 días y al mes después del cese del tratamiento CRT. La muestra de 28 sujetos estuvo formada por 12 hombres (41%) y 16 mujeres (59%) con una edad media de 25.4 ± 2.6 años. El grupo de 15 sujetos estuvo compuesto por 3 varones (20%) y 12 mujeres (80%) con una edad media de 22.8 ± 2.4 años.

El grupo 3 (control) fue evaluado en dos ocasiones separadas por un periodo de un mes entre visitas. Estaba formado por 3 varones (25%) y 7 mujeres (75%) con una edad media de 25.5 ± 2.5 años.

El grupo 4 (LASIK) fue evaluado antes de la cirugía LASIK y a los 15 días y 6 meses después de la intervención. Este grupo lo componían 15 mujeres (60%) y 10 hombres (40%) con media de edad de 30.7 ± 7.6 años.

2. MATERIAL

2.1 Adaptación de Lentes

Las lentes utilizadas en el estudio fueron Paragon CRT HDS 100 (Paragon Vision Sciences) distribuidas en España por Interlenco S.A. Su diseño presenta una cara anterior especular a la posterior la cual se divide en tres zonas (Fig. 3.1):

- Una zona central esférica.
- Una curva sigmoideal intermedia (Return Zone -W-).
- Una última zona que es una recta (Landing Zone -LZW-).

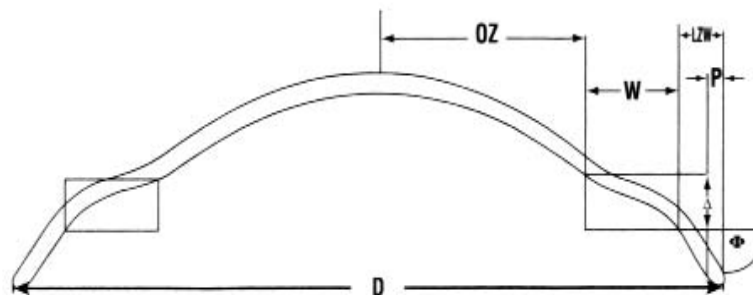


Figura 3.1. Geometría de la lente CRT

Las características de cada una de estas zonas son las siguientes:

- Anchura de la Return Zone (W): 0,75 a 1,5 mm. Lo habitual es 1 mm.
- Profundidad de la Return Zone (Δ): hasta 1.000 micras. Lo habitual es 500 a 600 micras en pasos de 25 en 25 micras.
- Radio Landing Zone: infinito. Angulo Landing Zone (Φ): -25° a -50° . Lo habituales entre 30° y 35° de grado en grado.

- Anchura Landing Zone (LZW): 0,50 a 2,75 mm. Anchura de borde (P): 0,04 mm. Potencia: -2 a +2 dioptrías. La habitual en uso ortoqueratológico es +0,50 D.

El proceso de adaptación de las LC y la elección de los parámetros definitivos de las lentes lo realizaron dos contactólogos experimentados. El procedimiento en cada adaptación fue siempre el mismo: en primer lugar se eligió una lente de prueba siguiendo los nomogramas del fabricante, los parámetros RZD y LZA se cambiaron en base al patrón de fluoresceína, al centrado y al movimiento de la lente, y de la refracción posterior (obtenida con la lente). El punto final de la adaptación lo determina un patrón de fluoresceína adecuado con buen centrado y una zona de toque central de unos 4mm con un reservorio lagrimal libre de burbujas de aire y una zona periférica tangente con un borde más claro y sobrefracción entre neutro y +0.50 D.

3. PROTOCOLO

El estudio siguió un protocolo controlado. Los métodos utilizados se realizaron de acuerdo a la bibliografía o bien a las recomendaciones del fabricante de los instrumentos.

Los procedimientos clínicos fueron realizados por un único profesional en todas las visitas de seguimiento. Todas las medidas se realizaron en el mismo lugar y las citas no debían diferir en más de dos horas respecto a la primera revisión realizada. Además, en cada una de las revisiones se hicieron siempre los mismos procedimientos y en el mismo orden. A continuación se enumeran los procedimientos clínicos evaluados según el orden de realización:

1. Cuestionario de ojo seco (McMonnies).
2. Cuestionario de satisfacción del tratamiento.
3. Topografía corneal con Wavelight Allegro Topolyzer (WaveLight Laser Technologies AG, Erlangen, Germany).
4. Refracción objetiva y subjetiva en primera y última visita.
Refracción objetiva en visitas sucesivas.

5. Agudeza visual de alto contraste (LogMAR, carta EDTRS) con compensación óptica en medida preliminar y sin ella en las visitas sucesivas.
6. Agudeza visual de bajo contraste (LogMAR, carta EDTRS 10%) con compensación óptica en medida preliminar y sin ella en las visitas sucesivas.
7. Secreción lagrimal con Rojo Fenol.
8. Evaluación biomicroscópica incluyendo el test de estabilidad lagrimal (Break up time , FBUT).
9. Tomografía de Coherencia Óptica de polo anterior (OCT, Visante, Carl Zeiss, Germany)
10. Microscopía confocal (CS4, Nidek Technologies, Italy).

De todos estos procedimientos se explicará en profundidad la microscopía confocal y los detalles del conteo celular por ser la prueba elegida para evaluar los cambios morfológicos de la córnea analizados en esta tesis.

3.1 Microscopia Confocal in vivo

El microscopio confocal (Fig. 3.2) utilizado en esta investigación es el Confoscan 4 (CS4, Nidek Technologies, Italy). El microscopio fue calibrado por el fabricante antes de cada una de los periodos de seguimiento a los largo del estudio. Este instrumento utiliza un objetivo Acroplan 40X (Zeiss) con una apertura numérica de 0.75. La evaluación se realizó usando un sensor que se fija en el objetivo y que es conocido como “z-ring”.



Figura 3.2 Microscopio Confocal Confoscan 4

Este dispositivo mide la distancia existente entre la córnea y el objetivo del instrumento durante el escaneado de las estructuras corneales lo que permite conocer la profundidad exacta de cada imagen corneal. En el CS4 esta modalidad de examen se conoce como FULL EXAM y permite la observación de imágenes desde la cámara anterior hasta el epitelio corneal atravesando el endotelio, el estroma, la capa de Bowman y el plexo nervioso (Fig. 3.3). El instrumento traduce esta exploración en 340 imágenes consecutivas en las que se indica la profundidad de la imagen y que pueden visualizarse como imágenes independientes o en formato video. El microscopio presenta otras modalidades de examen, sin embargo, ésta es la única que permite saber con exactitud en que profundidad de la córnea se encuentra cada imagen. Esta fue la modalidad de examen utilizada a lo largo de todo el estudio.

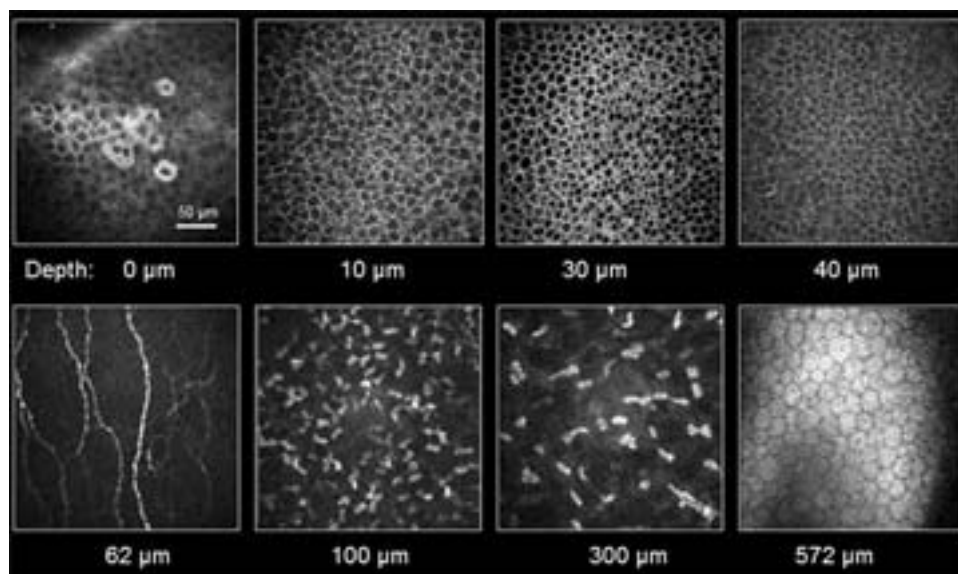


Figura 3.3 Imágenes de las diferentes capas corneales que obtiene el MC.

Para la realización de la prueba, se instila una gota de anestésico tópico, oxibuprocaina 0.4% (Prescaina, Llorens) en el fornix inferior del ojo. Además, es necesario la colocación de una gota de polímero, en nuestro caso Viscotears gel (Carbomer, Novartis Farmaceutica), en el objetivo del instrumento que permite el acoplamiento con la córnea. El procedimiento fue realizado en la córnea central de ambos ojos de cada sujeto en todos los grupos de estudio. Además en el grupo 1 (CRT), la medida fue realizada en

posición de mirada superior para evaluar la porción medio periférica (paracentral) de la córnea, concretamente a 2mm de su centro. Sin embargo, los exámenes en la córnea paracentral se obtuvieron únicamente en 13 de los sujetos del grupo 1. Las imágenes obtenidas de las diferentes capas corneales fueron almacenadas por el software del instrumento. La obtención de registros útiles fue difícil en algunos sujetos particularmente en las fases iniciales del estudio y algunas veces tuvo que repetirse la prueba.

El conteo de la densidad celular de las diferentes capas corneales se realizó de dos formas:

- 1) el método incluido en el software del CS4 (Fig. 3.4) -Confocommander 2.7.1, Nidek Technologies, Italy- puede ser automático, semiautomático y manual. Se eligió la modalidad semiautomática que permite corregir los errores cometidos por el modo automático.

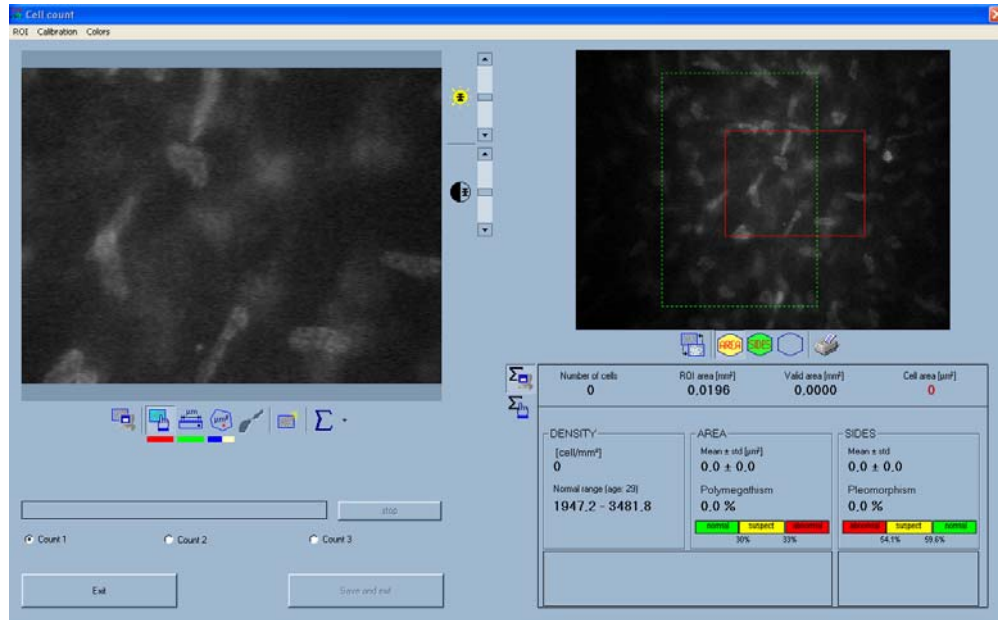


Figura 3.4 Imagen del Confocommander, contador de células del CS4

- 2) un programa del Nacional Institutes of Health USA denominado ImageJ (<http://www.rsb.info.nih.gov/ij/>, Fig. 3.5) basado en lenguaje JAVA

(imageJ) diseñado para diferentes valoraciones de la morfología celular. Este programa requiere una serie de transformaciones de la imagen para realizar el conteo celular (ver figuras 3.6 y 3.7). Estas fases se resumen por orden de realización en la tabla 3.1. En nuestro caso, estos pasos fueron seguidos de una inspección visual comparativa para la corrección de errores.

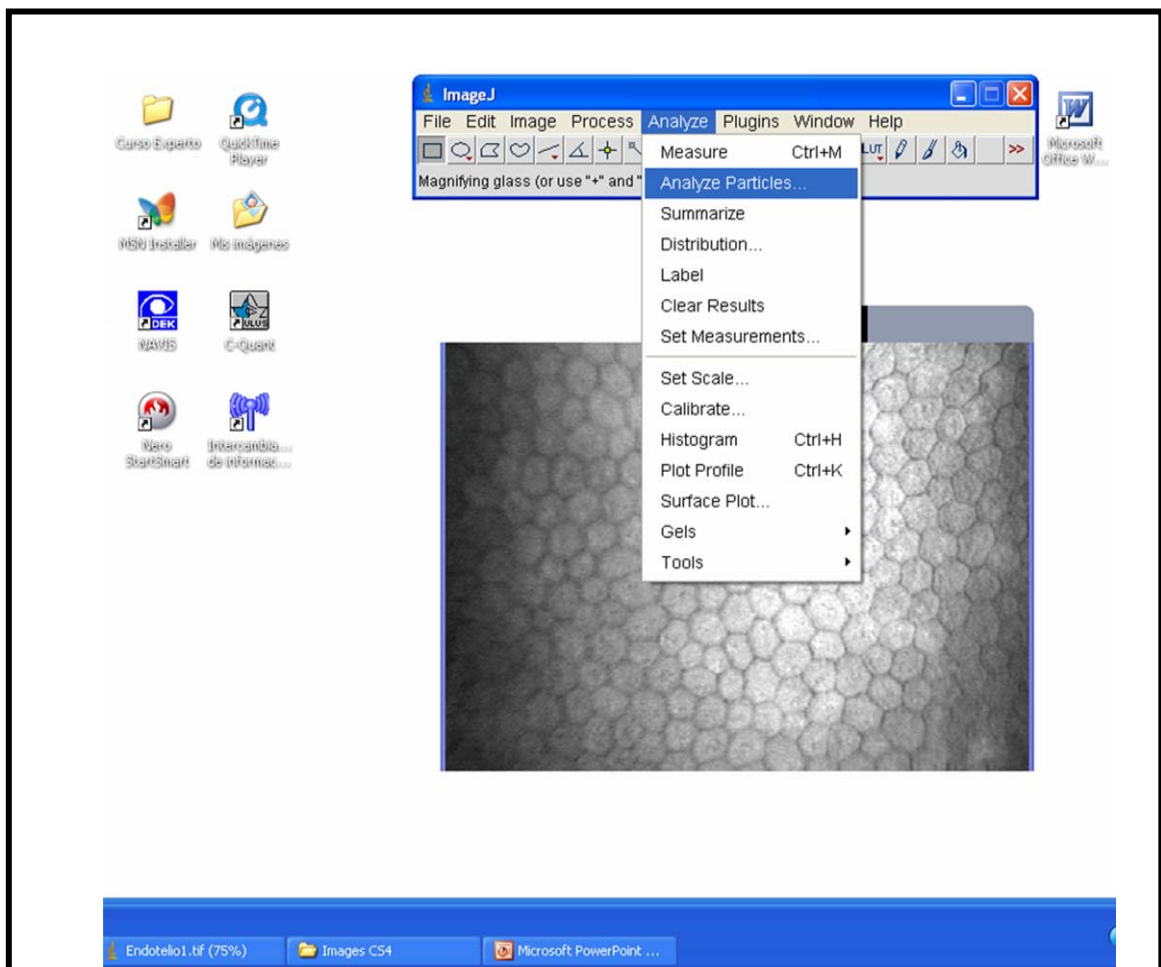


Figura 3.5 Imagen de la pantalla del ordenador donde aparece ImageJ

Tabla 3.1: Pasos a seguir para realizar el conteo celular con ImageJ	
Proceso	Función
Transformar imagen a 8 bit	Necesario para trabajar con las imágenes
Homogeneizar	Se ajusta el brillo para uniformar el campo
Umbral auto (70%)	Convierte en imagen binaria
Ruido	Quita pequeños objetos
Analizar	Cuenta las células

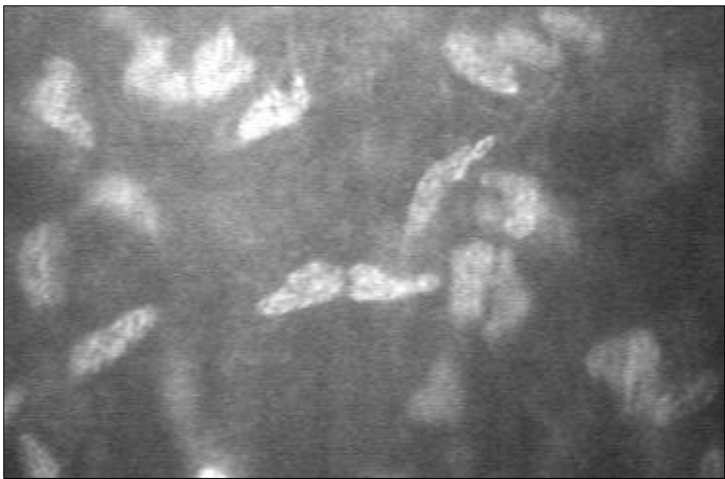


Figura 3.6 Imagen obtenida por CS4 y transformada a formato .tiff

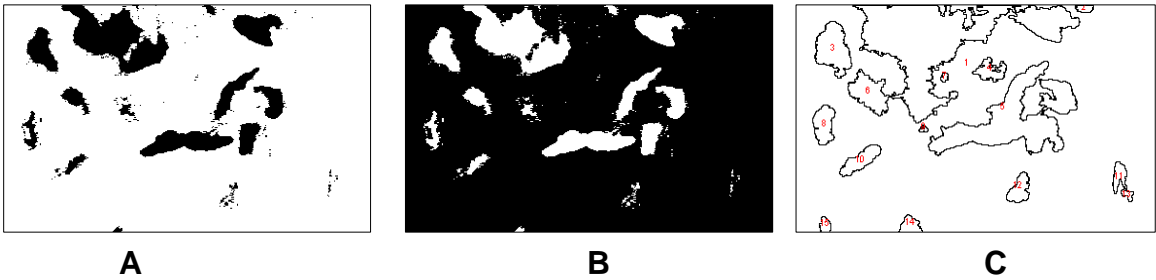


Figura 3.7. Transformación de figura 3.6 por ImageJ: A) en imagen 8 bits ; B) Extracción de pequeños objetos (ruido) y transformación a imagen binaria; C: Contaje celular automático

Los análisis de las imágenes se realizaron una vez concluidas todas las medidas del estudio y en todos los registros obtenidos desde el comienzo del mismo. Fue llevado a cabo por un solo observador ya que está referenciado en la bibliografía Jay et al. 2004, McLaren et al. 2007 que se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre observadores. Utilizando el software del CS4, las valoraciones de las imágenes se realizaron de forma aleatoria respecto al tiempo en que fue realizada la revisión del paciente. Con el conteaje anterior (Confocommander) se conoce el nombre del paciente y la fecha del registro cuando se está analizando la imagen lo que podría suponer una posible influencia en el evaluador y un sesgo en los resultados. Debido a lo anterior, se realizó un nuevo conteaje celular con el programa ImageJ; este conteaje fue enmascarado en cuanto a la persona y a la fecha de la visita y con ello se pretendía la verificación de los resultados obtenidos con el otro método elegido. Para ello se hizo una base de datos (Fig. 3.8) que incluía imágenes de las tres capas del estroma en tres puntos del tiempo (preliminar, al año de tratamiento y un mes después del cese de tratamiento). Esta base de datos incluía las mismas imágenes que habían sido analizadas con el Confocommander en las visitas de seguimiento correspondientes y que fueron codificadas numérica y aleatoriamente por un compañero que desconocía a que capa del estroma, paciente o fecha de revisión correspondía cada una de las imágenes.

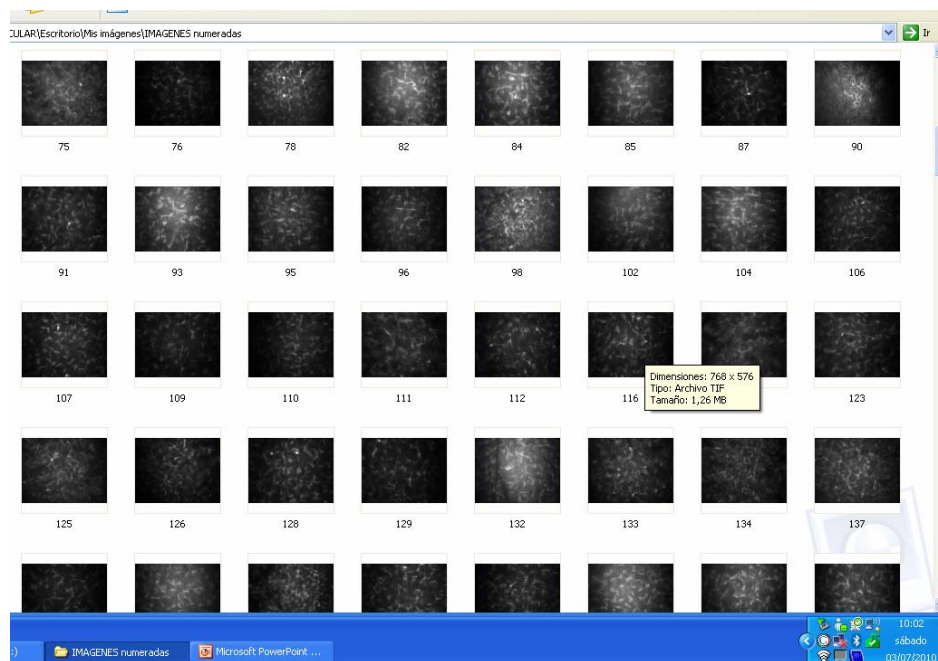


Figura 3.8 Base de datos de las imágenes codificadas numéricamente

El conteo celular se realizó en el endotelio, en tres niveles del estroma (anterior, medio y posterior), y en la capa de células basales, intermedias y superficiales del epitelio. Cuando fue posible, en el endotelio y el epitelio se evaluaron dos imágenes y se realizó el promedio. Además, en el endotelio se evaluaron los índices indicadores de stress corneal: polimegatismo y pleomorfismo. En el estroma se evaluaron tres imágenes de cada nivel del estroma (anterior, medio y posterior) separadas 16 micras (μm) entre si y se realizó el promedio de las mismas. Este valor fue elegido siguiendo el criterio de asegurar que una célula visible en una imagen no estuviese presente en las otras dos debido a que la profundidad de foco del instrumento permite observar una misma célula en imágenes consecutivas.

Una de las dificultades que se presentó en el conteo celular de las capas epiteliales fue la observación de las distintas células que componen el epitelio corneal, en las diferentes visitas de seguimiento, de manera que hubo pocos casos en los que se observaran los tres tipos de células en las diferentes revisiones, lo que suponía un sesgo importante en los análisis estadísticos ó incluso la imposibilidad de realizarlos. Por tanto, se decidió medir el porcentaje de ojos en los que aparecían cada tipo de células para establecer posibles cambios en el epitelio corneal. Además, se seleccionaron 15 casos en los que la imagen presentaba una visibilidad óptima de las células basales y superficiales de manera que permitiese medir la altura y anchura de las mismas en un plano paralelo de la córnea, tal y como se registran por el CM.

Otras características morfológicas evaluadas fueron la presencia de estrías y/o pliegues, células de Langerhans, la observación del número de fibras nerviosas y la presencia de queratocitos activados definidos por una alta reflectividad del núcleo celular.

Finalmente, para la evaluación de la paquimetría corneal y de los espesores de las diferentes capas corneales también fue utilizado el software del CS4. La precisión del instrumento para medir el espesor corneal ha sido probada en estudios previos^{Li et al. 1997, Patel et al. 2001, McLaren et al. 2007} siempre que para el examen se utilice el dispositivo z-ring, es decir se realice la modalidad

de examen FULL EXAM, que fue la utilizada en nuestro estudio como mencionamos anteriormente. Los diferentes espesores corneales vienen definidos por la gráfica que aporta el software y que transformada a blanco/negro puede observarse en la figura 3.9, donde el eje Y representa la reflectividad luminosa de cada imagen y el eje X la profundidad de la córnea en micras, por tanto se puede calcular el espesor de cada capa de la córnea por diferencias entre los picos de intensidad (cuando se esta utilizando el software).

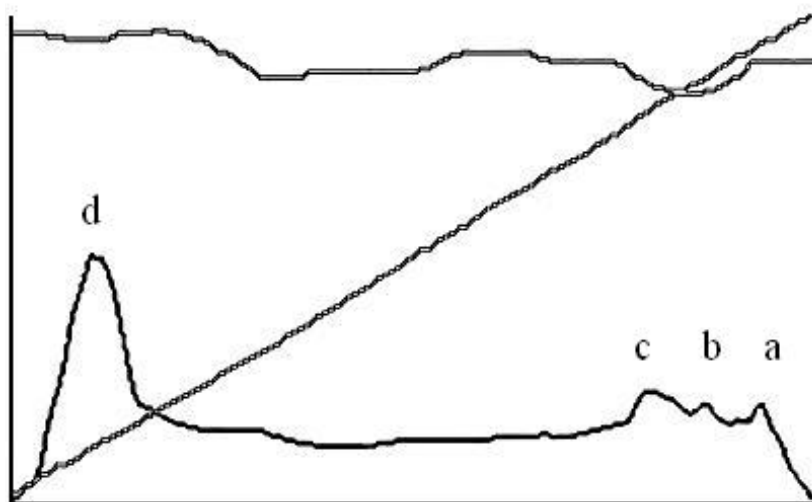


Figura 3.9 Perfil de intensidad luminosa de la córnea central obtenido con CS4
Los picos de intensidad representan: a) epitelio superficial; b) plexo nervioso basal, c) estroma anterior; d) endotelio

Los espesores definidos fueron: 1) *el espesor corneal total*, distancia entre el pico que marca el endotelio (d) y el epitelio superficial (a); 2) *el espesor del estroma corneal*, distancia entre el pico (d) y (c); 3) *el espesor de la membrana de Bowman más el plexo nervioso subbasal*, distancia entre (c) y (b) y 4) *el espesor epitelial*, distancia entre (b) y (a). Además, se hizo la diferenciación del espesor de la membrana de Bowman y del plexo nervioso subbasal mediante la inspección visual del recorrido **c-b** considerando *el espesor del plexo nervioso* la distancia desde el pico **b** hasta la primera imagen donde no se observaba ninguna fibra nerviosa y el espesor de la membrana de Bowman desde esta última imagen hasta el estroma anterior (pico c).

3.2 Consentimiento Informado

Los participantes del estudio cumplieron un documento de “Consentimiento de Datos Personales” conforme a la legislación vigente (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, y el Real Decreto 994/1999, de 11 de Junio por el que se aprueba el Reglamento de Medidas de Seguridad).

A todos los pacientes, tras la explicación exhaustiva de la técnica incluyendo la metodología, seguimiento, pronóstico y complicaciones, se les solicitó el preceptivo Consentimiento Informado, previo al comienzo de la terapia refractiva corneal. En él manifiestan expresamente su deseo de informarse acerca de la corrección óptica mediante terapia refractiva corneal u ortoqueratología nocturna; asimismo aceptan que sus datos personales y de salud sean tratados para investigación médica y científica (añadiéndose, por parte del facultativo responsable de esta tesis, la finalidad específica del empleo de sus datos clínicos, Anexo 1). Hemos utilizado un modelo específico realizado por Clínicas Novovisión basado en los modelos recomendados por la Sociedad Española de Oftalmología (De Lorenzo 2005); adaptando dicho consentimiento a la técnica de CRT (Anexo 2).

3.3 Encuesta de satisfacción

En una investigación en la que se desea evaluar la calidad óptica secundaria a una técnica de tratamiento es relevante conocer el grado de satisfacción de los pacientes independientemente de los resultados obtenidos en los procedimientos de evaluación de las variables.

El análisis de las respuestas de los pacientes permiten determinar si la técnica se está realizando de manera adecuada y adoptar nuevas decisiones para mejorar los resultados que aporten un mayor grado de satisfacción al paciente. Además, pueden contribuir a buscar relaciones entre respuestas indeseables y cambios en las variables evaluadas no esperados. Lógicamente, estos análisis deberían realizarse caso a caso.

Nuestra encuesta de satisfacción se basa principalmente en la evaluación subjetiva de la calidad visual percibida por el paciente en diferentes tareas de su vida diaria siendo el pilar fundamental la diferencia entre la visión con iluminación normal versus disminuida. Otro factor importante es la valoración del grado de molestia que cuantifica la percepción del paciente referente al uso de la lente de contacto. Finalmente el grado de satisfacción general es importante para conocer la opinión en diferentes momentos del proceso y en comparación a todas las variables encuestadas. La encuesta utilizada se puede consultar en el Anexo V del capítulo 8 donde se puede ver que los sujetos respondían a cuestiones subjetivas sobre su percepción visual con 3 niveles de satisfacción: bajo, medio y alto.

4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

El análisis estadístico fue realizado tanto en ambos ojos como en un sólo ojo de cada sujeto, siendo en general el ojo derecho seleccionado para todos los análisis estadísticos. El motivo principal de este hecho aún a perjuicio de disminuir la muestra es la dependencia demostrada en las diferentes características entre los 2 ojos de un mismo individuo^{Newcombe & Duff 1987}.

Los datos fueron inicialmente registrados en una base de datos (Excel 2003, Microsoft). El análisis estadístico fue realizado con software Statgraphics 5.1 y SAS 9.3 siguiendo los estándares publicados en la literatura médica.

El análisis de varianza bifactorial (two way anova -group x time) con medidas repetidas en el tiempo fue utilizado para la comparación de variables cuantitativas repetidas en el tiempo en 2 grupos de estudio distintos, es decir, para comparar la misma variable medida en dos puntos del tiempo y en dos grupos simultáneamente. Este análisis es objetivo siempre que no haya interacción entre los grupos y se utilizó en todos los casos susceptibles de su uso. Una vez realizado el estadístico deben comprobarse que los grupos no interaccionan (Fig 3.10), esto se observa en la gráfica de interacción donde las

rectas no deben cortarse. Si los grupos interaccionan (Fig 3.10A) el análisis puede no ser fiable y deben realizarse otros análisis estadísticos para inferir las diferencias obtenidas. No obstante, aún en el caso de que las rectas interaccionen aporta una información visualmente muy clara sobre lo que está sucediendo en la variable analizada. En los gráficos de interacción 3.10 se puede apreciar visualmente lo sucedido en algunas de las variables del estudio.

En casos de interacción entre grupos (Fig 3.10A) se recurrió a los análisis de comparación de medias, evaluando la significación estadística de las diferencias con el t test de Student pareado y no pareado, y sus equivalentes no paramétricos: test de rangos de Wilcoxon y Kruskal-Wallis test, tras averiguar la distribución de los datos. Para análisis de una variable a lo largo del tiempo también se utilizó el análisis de la varianza. Se ha considerado estadísticamente significativo cuando el p-valor es $< 0,05$.

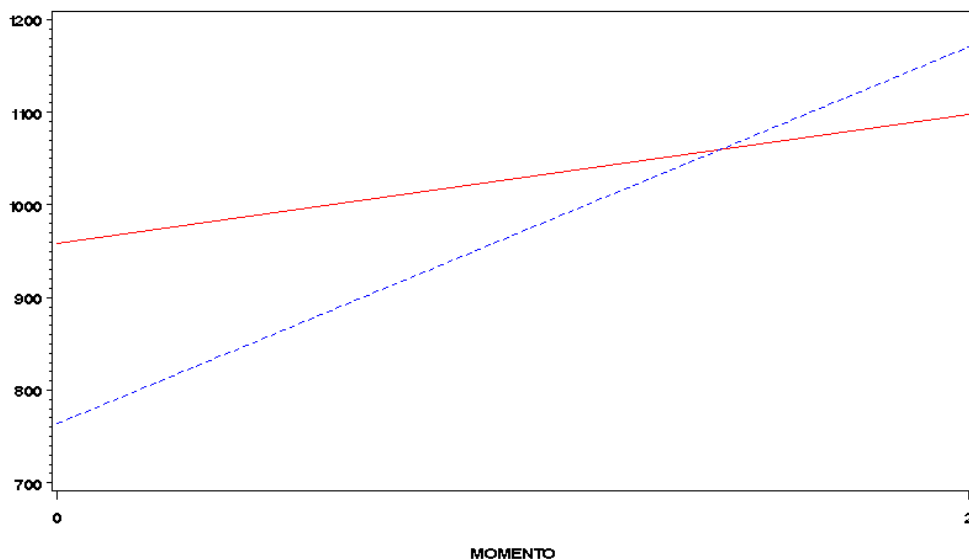


Figura 3.10 A: Análisis de varianza bifactorial con medidas repetidas en el tiempo para 1 variable del estudio con interacción.

Nota: Cada recta representa un grupo de estudio y el momento, los puntos en tiempo analizados

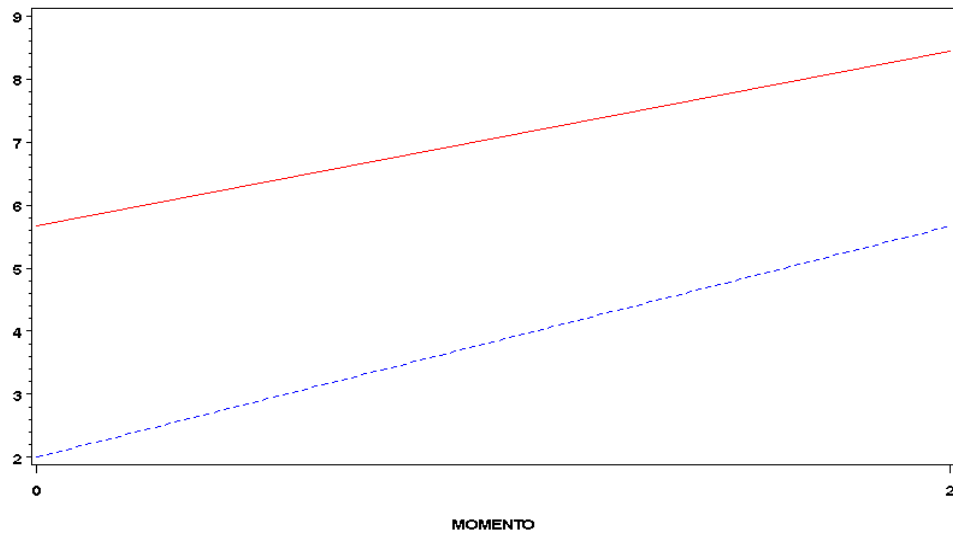


Figura 3.10 B: Análisis de varianza bifactorial con medidas repetidas en el tiempo para 1 variable del estudio sin interacción.

Nota: Cada recta representa un grupo de estudio y el momento, los puntos en tiempo analizados

IV. RESULTADOS

1. REFRACCIÓN, AGUDEZA VISUAL Y RADIOS CORNEALES

La distribución de las variables descriptivas y refractivas de la muestra se presenta en la tabla 4.1. También aparecen los valores medios de los meridianos principales de la córnea, y la agudeza visual de alto y bajo contraste. Los valores representan las medidas obtenidas en la primera visita de seguimiento del estudio, es decir antes de comenzar el tratamiento.

Tabla 4.1: Distribución de variables refractivas de los grupos de estudio				
Variable	Grupo 1 (OKN)	Grupo 2 (OKN)	Grupo 3 (Control)	Grupo 4 (LASIK)
	n = 28	n = 15	n = 10	n = 25
	media \pm desviación estándar			
Edad (años)	26.4 \pm 2.6	25.5 \pm 2.5	26 \pm 2.8	28.7 \pm 6.3
Mujeres (%)	59	80	80	60
Esfera (D)	-2.2 \pm 1.1	-2.1 \pm 0.95	-0.22 \pm 0.87	- 2.7 \pm 2.4
Cilindro (D)	-0.36 \pm 0.3	-0.4 \pm 0.3	-0.28 \pm 0.24	- 1.1 \pm 0.8
Equivalente Esférico (D)	-2.4 \pm 1.1	-2.3 \pm 0.95	-0.36 \pm 0.93	- 3.2 \pm 1.4
Meridiano más plano (D)	43.80 \pm 1.47	44.33 \pm 1.56	44.24 \pm 1.21	44.50 \pm 1.57
Meridiano más curvo (D)	43.09 \pm 1.55	43.54 \pm 1.68	43.60 \pm 1.16	43.39 \pm 1.45
Agudeza visual alto contraste	-0.07 \pm 0.07	-0.05 \pm 0.07	-0.01 \pm 0.05	0.01 \pm 0.01
Agudeza visual bajo contraste	0.08 \pm 0.07	0.11 \pm 0.06	0.11 \pm 0.07	0.03 \pm 0.02

n = número de ojos derechos

En el grupo 1, la refracción ocular, determinada tanto por el valor de la potencia de la esfera como por el equivalente esférico, se redujo significativamente ($p < 0.01$). Sin embargo, la potencia del cilindro subjetivo se mantuvo estable en las dos visitas de seguimiento. Los dos meridianos de la córnea se aplanaron significativamente ($p < 0.01$) a los 15 días y al mes después del comienzo del uso de OKN. Además el meridiano más plano se relacionó significativamente con la disminución del estado refractivo -esfera- ($r = -0.53$ $p < 0.01$). Finalmente no se detectaron diferencias en las agudezas visuales de alto y bajo contraste cuando se compararon las medidas preliminares obtenidas con la mejor graduación a las obtenidas después del comienzo de la OKN sin compensación óptica (tabla 4.2). Sin embargo, si fueron estadísticamente significativas si se compara la medida preliminar compensada con la de después del comienzo del tratamiento sin compensación óptica. **En el grupo control (grupo 3)** no se obtuvieron cambios en ninguna de las variables evaluadas al mes de la medida preliminar.

Tabla 4.2 Valores medios y desviación estándar de variables refractivas del grupo 1 en las visitas de seguimiento del estudio.			
Variable	Preliminar	A los 15 días	Al mes
	media \pm desviación estándar		
Esfera (D)	-2.2 \pm 1.1	-0.5 \pm 0.5 *	-0.3 \pm 0.6 *
Cilindro (D)	-0.36 \pm 0.3	-0.37 \pm 0.3	-0.39 \pm 0.3
Equivalente Esférico (D)	-2.4 \pm 1.1	-0.7 \pm 0.7 *	-0.5 \pm 0.7 *
Meridiano plano (D)	43.80 \pm 1.47	42.74 \pm 1.44*	42.51 \pm 1.52 *
Meridiano curvo (D)	43.09 \pm 1.55	41.98 \pm 1.48*	41.88 \pm 1.57*
Agudeza Visual alto contraste	0.07 \pm 0.07	-0.02 \pm 0.09	-0.05 \pm 0.09
Agudeza Visual bajo contraste	0.08 \pm 0.07	0.13 \pm 0.11	0.08 \pm 0.09

* Denota diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), $n = 56$

En el grupo 2, la refracción ocular determinada tanto por la potencia de la esfera como por el equivalente esférico se redujeron significativamente ($p<0.01$) a los 15 días después del comienzo del tratamiento y se mantuvieron así hasta 15 días después de finalizar el tratamiento cuando se encontraron valores iguales a los preliminares. La potencia del cilindro se mantuvo estable en todas las visitas de seguimiento a lo largo del tiempo. Ambos meridianos de la córnea se aplanaron significativamente ($p<0.01$) desde los 15 días de usar las lentes CRT y volvieron a los valores iniciales a los 15 días después de cesar de usar las lentes de contacto. También en este caso, el meridiano más plano se relaciona significativamente con la disminución del estado refractivo tanto considerando la esfera como el equivalente esférico. La figura 4.1 ilustra el modelo de regresión lineal obtenido a los 6 meses desde el comienzo del tratamiento, momento en el que este análisis alcanzó el coeficiente de correlación más alto ($r=-0.70$ $p<0.01$). Finalmente en general no se detectaron diferencias en las agudezas visuales de alto y bajo contraste cuando se compararon las medidas preliminares obtenidas con la mejor compensación óptica a las obtenidas después del comienzo de la OKN no compensadas excepto en la medida obtenida a los 3 meses después de iniciar el tratamiento. Además, en ambas agudezas visuales se encontraron mejorías significativas después de cesar el tratamiento. En la tabla 4.3 pueden apreciarse los valores medios y la desviación estándar de todas las variables en las diferentes visitas de seguimiento.

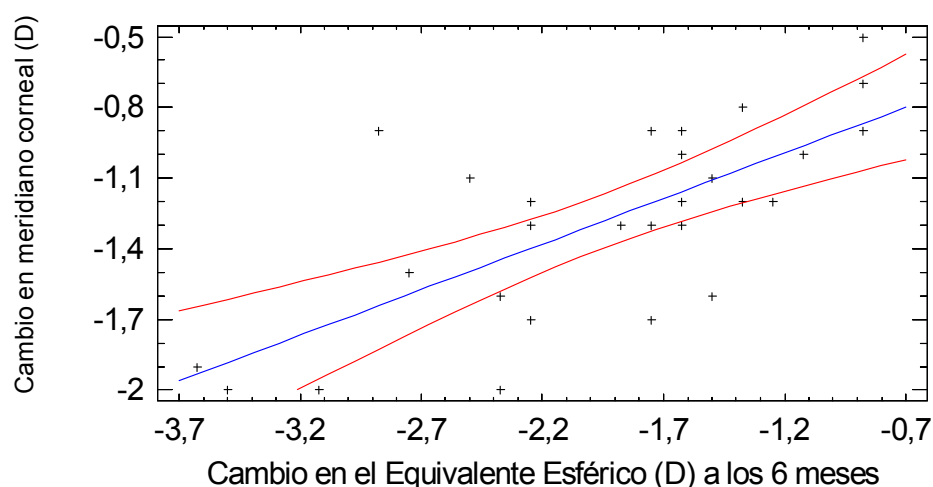


Figura 4.1 Correlación entre el cambio en el equivalente y el cambio en el meridiano corneal más plano a los 6 meses de tratamiento con lentes CRT ($r = -0.70$ $p < 0.01$).

Tabla 4.3: Valores medios y desviación estándar de variables refractivas del grupo 2 en las visitas de seguimiento del estudio.

Visita de Seguimiento	Ojo	Esfera (D)	Cilindro (D)	Equivalente Esférico (D)	Agudeza Visual Alto Contraste	Agudeza Visual Bajo Contraste	K curvo (D)	K plano (D)	Excentricidad Corneal
		media ± desviación estándar							
Preliminar	AO	-2.1 ± 1.0	-0.2 ± 0.5	-2.3 ± 1.0	-0.05 ± 0.07	0.11 ± 0.06	44.33 ± 1.56	43.54 ± 1.68	0.50 ± 0.07
	OD	-2.1 ± 1.0	-0.35 ± 0.3	-2.28 ± 1.0	-0.05 ± 0.07	0.12 ± 0.03	44.26 ± 1.63	43.48 ± 1.75	0.49 ± 0.07
A los 15 días	AO	-0.3 ± 0.5 *	-0.4 ± 0.3	-0.5 ± 0.5 *	-0.03 ± 0.07	0.10 ± 0.07	43.18 ± 1.61*	42.33 ± 1.68 *	-0.07 ± 0.18 *
	OD	-0.3 ± 0.5 *	-0.35 ± 0.1	-0.50 ± 0.58 *	-0.03 ± 0.07	0.09 ± 0.06	43.15 ± 1.65 *	42.27 ± 1.78 *	-0.05 ± 0.18 *
Al mes	AO	-0.2 ± 0.5 *	-0.4 ± 0.3	-0.4 ± 0.5 *	-0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.07	43.06 ± 1.63 *	42.35 ± 1.71 *	-0.12 ± 0.22 *
	OD	-0.2 ± 0.4 *	-0.2 ± 0.3	-0.4 ± 0.13 *	-0.01 ± 0.07	0.12 ± 0.07	42.97 ± 1.71 *	42.29 ± 1.82 *	-0.13 ± 0.23 *
A los 3 meses	AO	-0.4 ± 0.5 *	-0.4 ± 0.3	-0.4 ± 0.5 *	0.03 ± 0.11 *	0.17 ± 0.12 *	43.15 ± 1.66 *	42.5 ± 1.66 *	-0.06 ± 0.20 *
	OD	-0.5 ± 0.6 *	-0.4 ± 0.3	-0.7 ± 0.6 *	0.04 ± 0.14	0.18 ± 0.15	43.08 ± 1.73 *	42.50 ± 1.68 *	-0.09 ± 0.19 *
A los 6 meses	AO	-0.2 ± 0.5 *	-0.4 ± 0.3	-0.2 ± 0.5 *	-0.09 ± 0.10	0.05 ± 0.08	43.23 ± 1.59 *	42.4 ± 1.69 *	-0.12 ± 0.28 *
	OD	-0.3 ± 0.4	-0.4 ± 0.3	-0.5 ± 0.4 *	-0.08 ± 0.11	0.05 ± 0.08	43.23 ± 1.62 *	42.43 ± 1.71 *	-0.13 ± 0.28 *
A los 12 meses	AO	-0.3 ± 0.6 *	-0.3 ± 0.2	-0.5 ± 0.6 *	-0.06 ± 0.10	0.10 ± 0.14	43.08 ± 1.26 *	42.21 ± 1.23 *	-0.05 ± 0.21 *
	OD	-0.4 ± 0.5 *	-0.3 ± 0.2	-0.5 ± 0.5 *	-0.07 ± 0.11	0.11 ± 0.17	42.97 ± 1.34 *	42.22 ± 1.71 *	-0.02 ± 0.26 *
15 días tras cese OKN	AO	-1.9 ± 1.2	-0.2 ± 0.2	-2.0 ± 1.2	-0.10 ± 0.05 *	0.01 ± 0.08 *	44.18 ± 1.27	43.25 ± 1.22	0.45 ± 0.11
	OD	-1.9 ± 1.1	-0.2 ± 0.2	-2.0 ± 1.1	-0.11 ± 0.05 *	0.01 ± 0.08 *	44.10 ± 1.41	43.14 ± 1.28	0.44 ± 0.11
30 días tras cese OKN	AO	-2.0 ± 1.1	-0.3 ± 0.2	-2.2 ± 1.1	-0.10 ± 0.06 *	0.01 ± 0.08*	44.18 ± 1.29	43.38 ± 1.24	0.47 ± 0.09
	OD	-2.1 ± 1.1	-0.2 ± 0.2	-2.2 ± 1.1	-0.10 ± 0.06 *	0.02 ± 0.09 *	44.02 ± 1.41	43.25 ± 1.36	0.46 ± 0.08

* Denota diferencia estadística significativa (p <0.05)

En el grupo 4 no se encontraron diferencias en las agudezas visuales de alto y bajo contraste cuando fueron analizadas por análisis de varianza, sin embargo la comparación de muestras pareadas en cada punto del tiempo reveló diferencia significativa a los 15 días después de la cirugía LASIK que retornó a los valores preliminares en la visita de 6 meses. La refracción ocular se redujo y los radios corneales se aplanaron significativamente tanto con análisis de varianza como con t Student para muestras pareadas.

2. HISTOLOGÍA CELULAR

2.1 Grupo 1 versus Grupo 3 (control)

Los valores de las variables morfológicas del grupo 1 y 3 pueden observarse en la tabla 4.4.

Tabla 4.4: Media y desviación estándar de la densidad celular de cada capa corneal y otras variables morfológicas del grupo 1 y 3

Variable	Grupo	Preliminar	A los 15 días	Al Mes
		media \pm desviación estándar		
Densidad celular endotelio (cel/mm ²)	1	2607 \pm 524	2464 \pm 490	2507 \pm 512
	3	2079 \pm 205	--	2014 \pm 245
Polimegatismo (%)	1	31.2 \pm 6.6	34.2 \pm 10.5	30.7 \pm 7.7
	3	27.4 \pm 4.9	--	26.6 \pm 3.8
Pleomorfismo (%)	1	58.7 \pm 11.1	58.2 \pm 12.2	60.6 \pm 10.1
	3	63.1 \pm 9.1	--	71.7 \pm 7.9
Densidad de queratocitos en estroma posterior (cel/mm ²)	1	676 \pm 87	638 \pm 130	657 \pm 108
	3	896 \pm 94	--	887 \pm 86
Densidad de queratocitos en estroma medio (cel/mm ²)	1	618 \pm 99	577 \pm 116	590 \pm 126
	3	844 \pm 57	--	843 \pm 93
Densidad de queratocitos en estroma anterior (cel/mm ²)	1	951 \pm 166	925 \pm 143	968 \pm 186
	3	1222 \pm 265	--	1213 \pm 261
Número de fibras nerviosas	1	4.2 \pm 1.6	4.6 \pm 2.3	3.2 \pm 1.7
	3	4.7 \pm 2.4	--	4.4 \pm 2.3
Número de queratocitos activados	1	3.7 \pm 2.8	6.5 \pm 3.0	7.1 \pm 5.1
	3	2.3 \pm 2.4	--	2.6 \pm 2.3
Densidad de células basales del epitelio (cel/mm ²)	1	3989 \pm 376 n = 22	3588 \pm 528 n = 17	3579 \pm 322 n = 13
	3	4085 \pm 438 n = 8		4008 \pm 412 n = 7
Densidad células intermedias del epitelio (cel/mm ²)	1	862 \pm 139 n = 3	893 \pm 242 n = 5	1129 \pm 183 n = 7
Densidad células superficiales del epitelio (cel/mm ²)	1	530 \pm 163 n = 5	357 \pm 143 n = 7	680 \pm 437 n = 6

El análisis de varianza bifactorial two way anova (group x time) con medidas repetidas en el tiempo reveló que no hubo diferencias significativas en la densidad celular del endotelio ($p = 0.30$) entre el grupo experimental y el control, al mes desde el comienzo del tratamiento OKN. Igualmente sucedió con el porcentaje de polimegatismo ($p = 0.20$). Sin embargo, el porcentaje de pleomorfismo aumentó significativamente (momento x grupo, $p = 0.03$, Fig. 4.2) en el grupo control al mes respecto de la revisión preliminar.

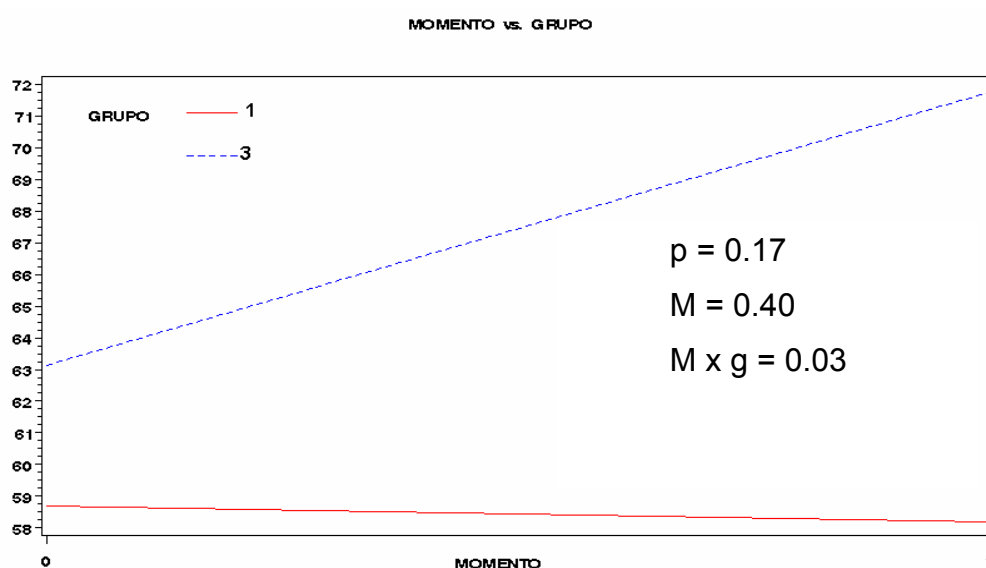


Figura 4.2 Pleomorfismo: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 3 para la visita preliminar y la del mes (momento 0 y 1, respectivamente)

El análisis de varianza bifactorial con medidas repetidas en el tiempo mostró que la densidad celular del estroma anterior, medio y posterior fueron diferentes entre el grupo experimental y el control ($p < 0.01$ en los 3 casos, fig. 4.3, 4.4 y 4.5) pero los tres niveles del estroma se mantuvieron sin cambios respecto al tiempo en ambos grupos. Sin embargo, la comparación de medias mediante la t-Student para muestras pareadas pos hoc en estas 3 variables relevó una reducción en la densidad celular del estroma medio (tabla 4.5).

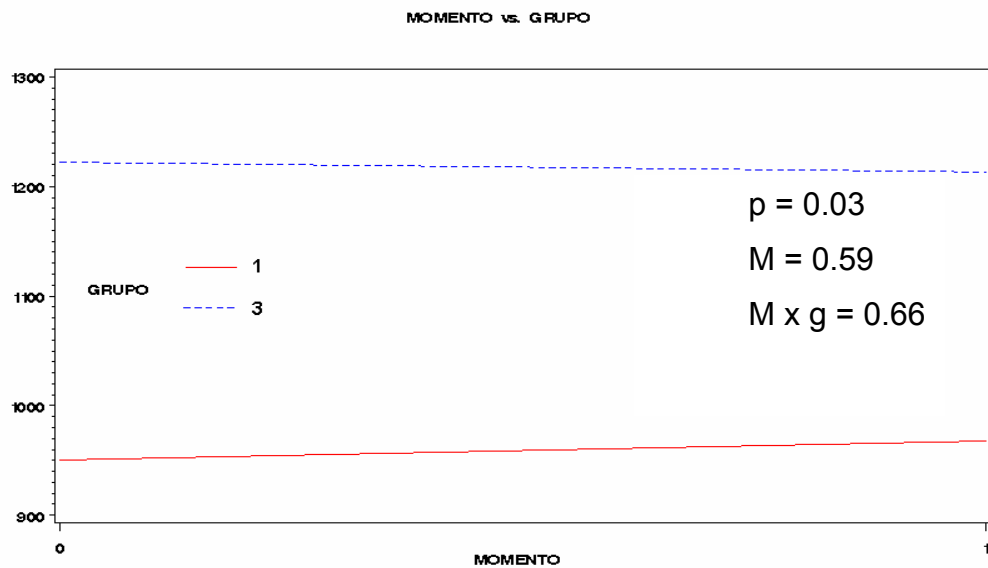


Figura 4.3 Estroma Anterior (cel/mm²): gráfica de interacción entre el grupo 1 y 3 para la visita preliminar y la del mes (momento 0 y 1, respectivamente).

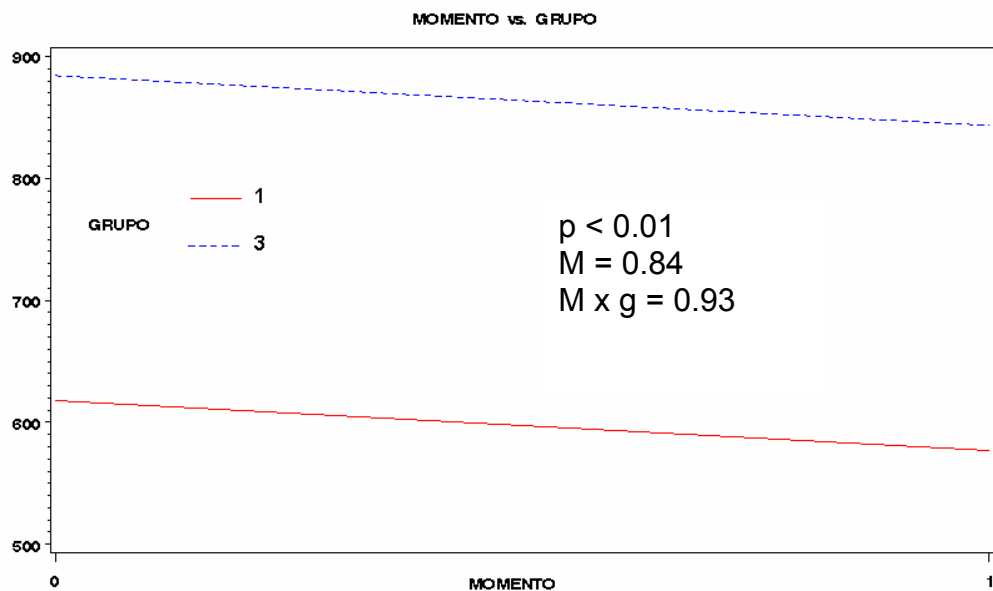


Figura 4.4 Estroma Medio (cel/mm²): gráfica de interacción entre el grupo 1 y 3 para la visita preliminar y la del mes (momento 0 y 1, respectivamente).

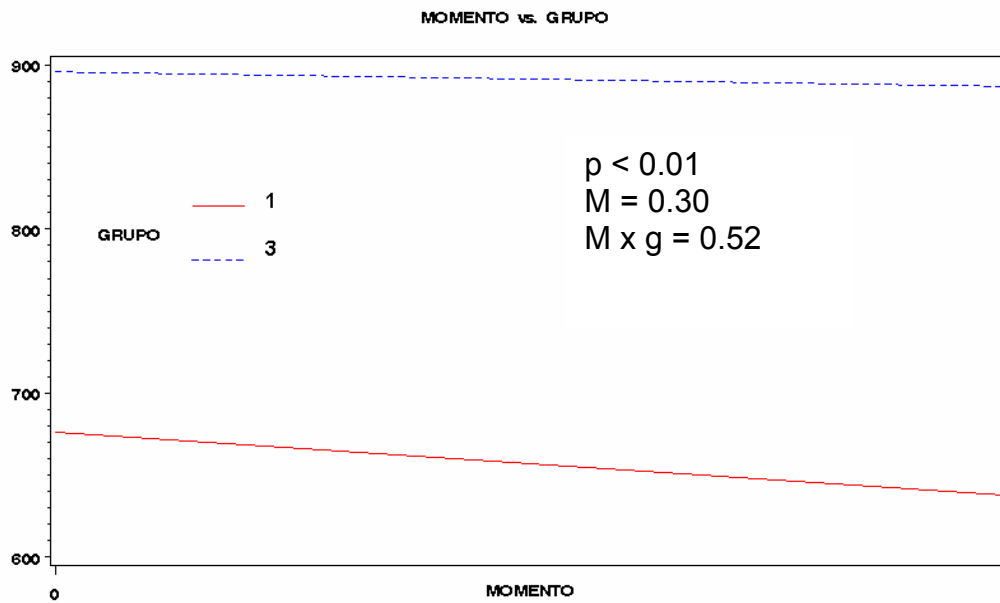


Figura 4.5 Estroma Posterior (cel/mm²): gráfica de interacción entre el grupo 1 y 3 para la visita preliminar y la del mes (momento 0 y 1, respectivamente).

La densidad de las células basales del epitelio corneal fue igual en ambos grupos y mostró una disminución significativa entre ambos momentos (al mes de comenzar el tratamiento) en el grupo experimental ($p = 0.03$ Fig 4.6). En este caso, la comparación de la variable por análisis de muestras pareadas pos hoc coincidió con el análisis de varianza bifactorial, obteniéndose una disminución significativa de la densidad de las células basales epiteliales en los dos puntos del tiempo evaluados (tabla 4.5). En el grupo control, las células intermedias o superficiales no se observaron en un número suficiente de ojos por lo que no se pudo comprobar las diferencias entre visitas.

Tabla 4.5: Comparación de las variables morfológicas mediante análisis de muestras pareadas en las dos visitas de seguimiento del grupo 1.

Variable	A los 15 días		Al mes	
	n	m ± DE	n	m ± DE
Densidad celular del endotelio (cel/mm ²)	24	-77 ± 181	27	-100 ± 225
Polimegatismo (%)	24	3.1 ± 8.8	27	-0.8 ± 6.1
Pleomorfismo (%)	24	-0.76 ± 11	27	2.4 ± 10.6
Densidad celular del estroma posterior (cel/mm ²)	25	-45 ± 152	27	-19 ± 105
Densidad celular del estroma medio (cel/mm ²)	24	-48 ± 107 *	27	-28 ± 102
Densidad celular estroma anterior (cel/mm ²)	24	-37 ± 184	25	-1.8 ± 194
Presencia de fibras nerviosas (unidades)	14	0.07 ± 2.6	15	-0.7 ± 2.5
Queratocitos activados (unidades)	16	2 ± 2.3 *	17	3 ± 4.7 *
Densidad celular del epitelio basal (cel/mm ²)	15	-517 ± 465 *	13	-416 ± 137 †

n = número de ojos derechos, m = media, DE = desviación estándar. * (p<0.05) y † (p <0.01)

Denota diferencia estadística significativa

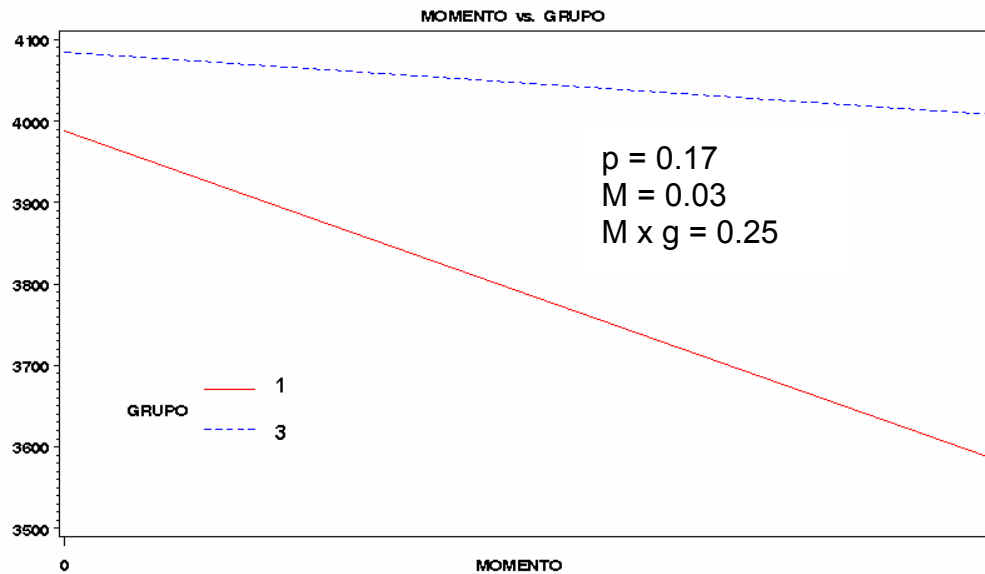


Figura 4.6 Epitelio Basal (cel/mm²): gráfica de interacción entre el grupo 1 y 3 para la visita preliminar y la del mes (momento 0 y 1, respectivamente).

En el grupo 1, los cambios en la densidad celular de las diferentes capas corneales evaluadas fueron investigados en relación al estado refractivo preliminar de los pacientes. Para ello se realizó un análisis de varianza y una regresión lineal (tabla 4.6). La disminución de la densidad en las células basales del epitelio se relacionó con el estado refractivo. El análisis de regresión lineal reveló que a mayor cuantía de la miopía previa mayor disminución de la densidad de las células basales (Fig. 4.7, $r = 0.46$ $p < 0.05$).

La activación de queratocitos fue diferente entre grupos en la medida preliminar (Fig. 4.8) y mostró un aumento en su presencia ($p < 0.05$) en el grupo 1 en la visita del mes. En cuanto a la visualización de las fibras nerviosas no fue diferente entre grupos ni experimentó cambios con el tratamiento.

Tabla 4.6: Análisis de regresión y varianza entre los cambios en la densidad celular y el estado refractivo al mes de tratamiento.

Capa Corneal	n	Correlación de Pearson	Análisis de varianza
Endotelio	24 OD	$r = 0.24$ $p = 0.11$	$p = 0.06$
Estroma Anterior	24 OD	$r = 0.03$ $p = 0.83$	$p = 0.25$
Estroma Medio	24 OD	$r = -0.39$ $p = 0.80$	$p = 0.43$
Estroma Posterior	25 OD	$r = -0.38$ $p = 0.09$	$p = 0.10$
Epitelio Basal	25 AO 13 OD	$r = 0.61$ $p = 0.02$ $r = 0.46$ $p = 0.02$	$p = 0.06$ $p = 0.01$

OD = ojo derecho, AO = ambos ojos

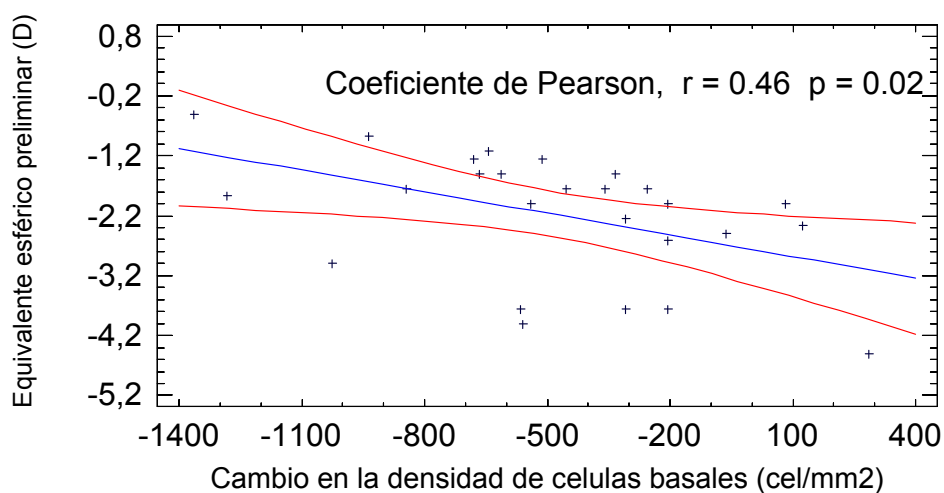


Figura 4.7: Análisis de regresión entre el cambio en la densidad de las células basales del epitelio y el equivalente esférico preliminar.

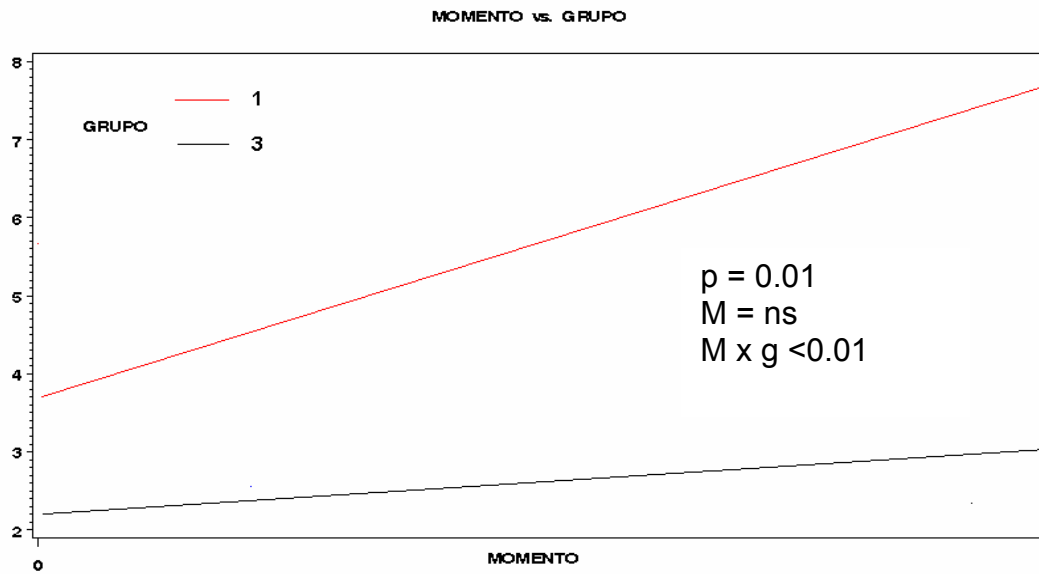


Figura 4.8 Queratocitos activados: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 3 para la visita preliminar y la del mes.

Como se mencionó en la sección de métodos y dado que en la evaluación preliminar fue difícil distinguir las células intermedias y superficiales como para dar una estimación de la densidad celular rigurosa, particularmente en el grupo 3, estas variables no pudieron compararse. Las células epiteliales fueron registradas en función de su visibilidad y distinción en cada visita de seguimiento de forma que pudo registrarse el porcentaje de casos en los que se observaba cada tipo de célula en particular. Los porcentajes pueden observarse en la figura 4.9 y puede comprobarse el incremento significativo en la presencia de células intermedias y superficiales a lo largo del tiempo ($p < 0.05$)

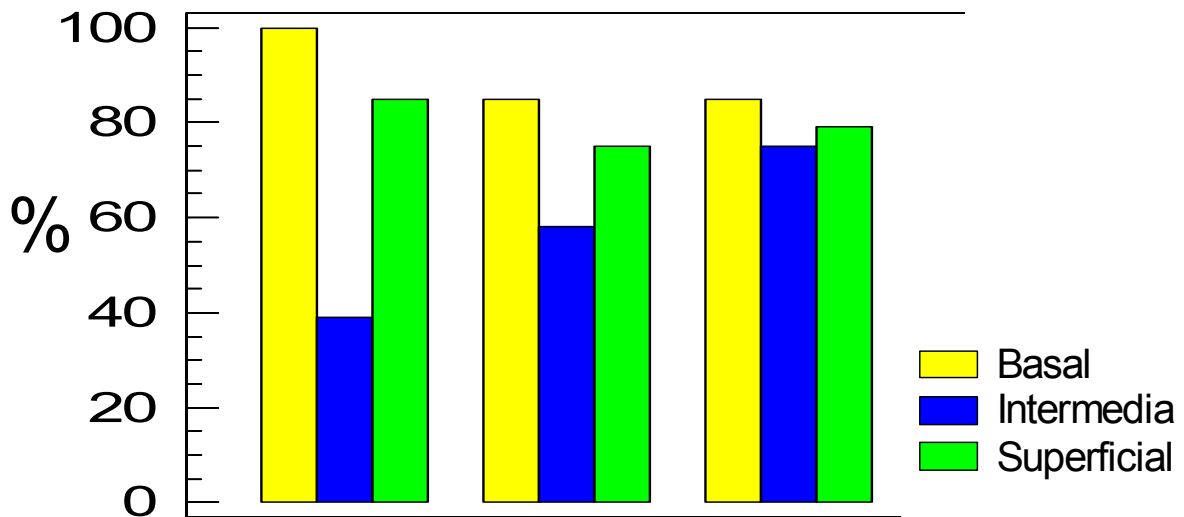


Figura 4.9: Porcentaje de ojos en los que fueron observadas las distintas células epiteliales en las distintas visitas de seguimiento.

Además se comprobó la anchura y la altura de las células susceptibles de medida basándose en la observación y la diferenciación clara de los límites de cada célula. Esto pudo llevarse a cabo en las células basales y superficiales. Sin embargo, no pudo determinarse en las células intermedias ya que los límites adyacentes entre células no estuvieron suficientemente claros. Las células basales no variaron ni en anchura, ni altura un mes después del inicio del tratamiento. Sin embargo, se observó una distribución más irregular y de menor visibilidad al mes de tratamiento. Se observó un aumento del núcleo celular de las células superficiales. También se incrementó la anchura y la altura de cada célula (tabla 4.7) aunque únicamente el aumento de la anchura celular alcanzó significación estadística ($p < 0.01$).

Tabla 4.7: Altura y anchura de las células epiteliales (en micras) analizadas en la medida preliminar y al mes de tratamiento.

Célula epitelial n = 24		Preliminar		Al mes	
		Ancho (μm)	Altura (μm)	Anchura (μm)	Altura (μm)
Basal	m \pm DE	14.7 \pm 1.9	14.4 \pm 2.1	14.6 \pm 1.9	15.1 \pm 2.8
	Rango	9.6-18.6	10.4-18.6	11.3-17.9	9.3-18.8
Superficial	m \pm DE	26.8 \pm 4.2	30.1 \pm 5.1	35.8 \pm 4.2 *	36.3 \pm 4.3
	rango	21.8 -35.0	20.7-39.2	28.1-41.3	31.5-46.1

n = número de ojos derechos ó izquierdos, m = media, DE = desviación estándar.* Denota diferencia estadística significativa, $p < 0.01$

El análisis ANOVA bifactorial indicó que la paquimetría corneal, la longitud del endotelio, la longitud del estroma y de la membrana de Bowman no fueron diferentes entre grupos ni cambiaron al mes desde el comienzo del tratamiento. Sin embargo, los análisis de comparación de muestras pareadas pos hoc revelaron que el espesor de la membrana de Bowman sumado al espesor del plexo nervioso disminuyó significativamente tras un mes de uso de OKN. Cuando se analizaron estos espesores separadamente se comprobó que aunque la tendencia clínica del espesor de la membrana de Bowman fue también de disminución, este cambio no se mostró estadísticamente significativo; mientras que la reducción del espesor del plexo nervioso sí lo fue.

El epitelio corneal obtuvo valores similares entre grupos (1 y 3) en la medida preliminar pero disminuyó en el grupo 1 a los 15 días y al mes, cuando la diferencia alcanzó diferencia estadísticamente significativa tanto en el análisis ANOVA bifactorial (momento x grupo, $p < 0.05$) como con la comparación de muestras pareadas ($p < 0.01$, tabla 4.8). Estos análisis fueron realizados para dos subgrupos dentro de la misma muestra debido a que la medida periférica solo pudo obtenerse correctamente en 13 sujetos de los 28

participantes, como fue mencionado en la sección de metodología. Por tanto, se investigó si la disminución epitelial se produjo en ambos subgrupos procedentes del grupo 1, y como puede observarse en la tabla 4.8, los resultados obtenidos fueron los mismos: una disminución estadísticamente significativa del espesor epitelial central. Sin embargo, el espesor periférico del epitelio corneal aunque disminuyó, no alcanzó diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.08$).

Tabla 4.8: Media y desviación estándar de los espesores corneales obtenidos con microscopía confocal y OCT y análisis comparativo de muestras pareadas en las dos visitas de seguimiento.				
Espesor Corneal	n	Preliminar	A los 15 días	Al mes
		m ± DE (µm)		
Espesor Corneal Central	27	535.4 ± 39.7	-0.7 ± 29	-6.5 ± 28
Espesor Central del Estroma		452.8 ± 38.0	4.1 ± 22	-0.31 ± 28
Espesor Central Bowman + Plexo N subbasal		29.7 ± 7.1	-1.8 ± 12	-5 ± 11 *
Espesor Central Bowman		14.6 ± 6.1	-1.1 ± 4.1	-1.8 ± 4.6
Espesor Central Plexo N subbasal		15.1 ± 3.8	-1.8 ± 8.2	-3.7 ± 6 *
Espesor Central del Epitelio sin Plexo N subbasal		37.7 ± 10.1	-3.4 ± 12	-5.5 ± 11 *
Espesor Central del Epitelio con Plexo N subbasal		52.8 ± 7	-5.2 ± 9 *	-9.2 ± 8 †
Espesor Corneal Central	13	528 ± 29.9	-1.4 ± 33	-2.8 ± 24
Espesor Corneal Central (OCT)		521 ± 30.8	-4.7 ± 29	-6.4 ± 7 †
Espesor Central del Epitelio		40.0 ± 10.8	-6.1 ± 9	-9.2 ± 14 *
Espesor Periférico del Epitelio		45.4 ± 11.9	--	-7 ± 14

n = número de ojos derechos, m = media, DE = desviación estándar. Denota diferencia estadística significativa * $p < 0.05$, † $p < 0.01$

La paquimetría corneal ó espesor corneal central obtenida con OCT obtuvo la misma tendencia de disminución que la obtenida por MC y alcanzó disminución estadísticamente significativa al mes de tratamiento. El espesor de la córnea también fue investigado con OCT, a diferentes áreas de medida respecto del apex corneal. En el área central de 0 a 2 mm se encontró una disminución estadísticamente significativa al mes de tratamiento. A partir de los 2mm, se obtuvo un aumento del espesor corneal que fue estadísticamente significativo en la medida del mes, en el área corneal que cubre desde los 5mm a 10 mm desde el apex corneal (Fig. 4.10).

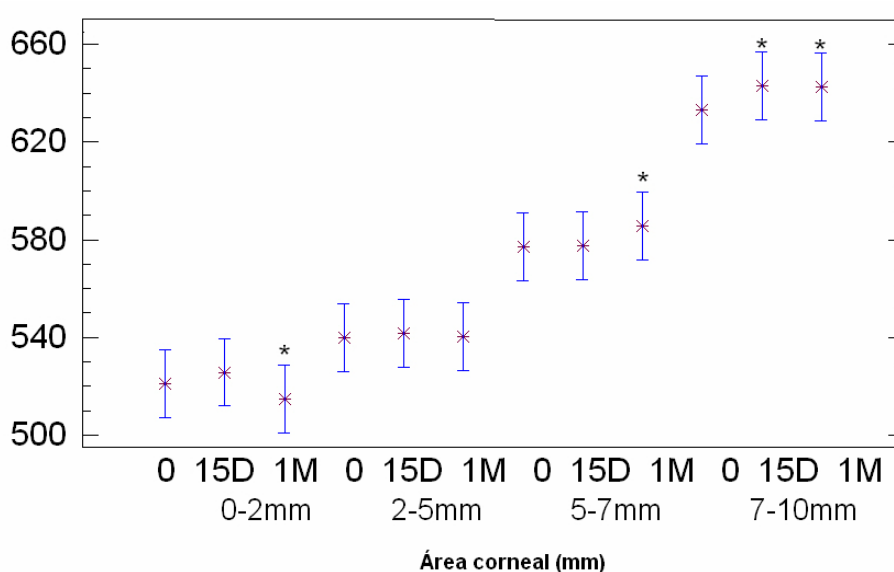


Figura 4.10. Análisis de la varianza del Espesor Corneal (micras) obtenido por OCT a diferentes distancias del apex corneal.

D = días, M = mes. La barra representa la media y la desviación estándar al nivel de confianza del 95%. * Denota diferencia estadística significativa, $p < 0.05$

La densidad celular central y periférica fueron comparadas usando la t Student para muestras pareadas en los 13 sujetos en los que pudieron obtenerse las medidas periféricas. Cuando se comparó la densidad celular de la córnea central respecto a la paracentral inferior (a 2mm del apex), todas las capas corneales evaluadas se mostraron en valores similares en los dos puntos del tiempo evaluados. Sin embargo, a nivel clínico, en la medida preliminar se observó mayor densidad celular en endotelio, estroma posterior y estroma medio en la zona central y más densidad celular en la zona

paracentral del el estroma anterior. Un mes después del comienzo de OKN, la tendencia clínica observada en la medida preliminar se invirtió en el estroma posterior y medio conservándose la relación inicial en el estroma anterior (tabla 4.9) aunque en ningún caso estas comparaciones alcanzaron diferencias estadísticamente significativas. Finalmente, cuando se compararon estas variables en la zona paracentral para los dos puntos del tiempo, se comprobó una reducción de la densidad celular del estroma anterior que alcanzó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$, tabla 4.9).

Tabla 4.9: Análisis comparativo de muestras pareadas de la densidad celular y el espesor de las diferentes capas corneales en el centro y la periferia corneal al mes de seguimiento.

Variable	Central vs Periferia	Central vs Periferia	Periferia vs Periferia
	Preliminar	Al Mes	Al Mes
	m \pm DE, n = 13		
Densidad celular del endotelio (cel/mm ²)	-58 \pm 234	-28 \pm 218	-42 \pm 330
Densidad celular del estr. posterior (cel/ m ²)	-46 \pm 142	5.1 \pm 114	-43 \pm 130
Densidad celular del estr. medio (cel/mm ²)	-51 \pm 76	36 \pm 115	29 \pm 92
Densidad celular del estr. anterior (cel/mm ²)	10 \pm 89	38 \pm 155	-108 \pm 85 *
Espesor Corneal Total (μ m)	27 \pm 30	2.8 \pm 27	-5.7 \pm 17
Espesor Estroma (μ m)	-2.1 \pm 23	2.3 \pm 28	1.9 \pm 14
Espesor Epitelio (μ m)	-5.4 \pm 16	-7.6 \pm 16	7.0 \pm 14

n = número de ojos derechos, m = media, DE = desviación estándar* Denota diferencia estadística significativa, $p < 0.05$

2.2 Grupo 2

En el grupo 2, las medidas preliminares de los mismos sujetos sirvieron como control del tratamiento ya que se evaluaron las mismas variables que en el grupo 1 pero en un periodo de tiempo largo. Por otro lado, este grupo tenía la función de verificar los hallazgos obtenidos en el grupo 1 que cubría un periodo de tiempo corto. Asimismo sirvió para comprobar la recuperación de los cambios obtenidos en el tiempo. No obstante, se analizó mediante ANOVA bifactorial si había obtenido las mismas tendencias que el grupo 1 en las dos medidas de las revisiones post tratamiento coincidentes en el tiempo (15 días y un mes).

2.2.1 Grupo 1 versus grupo 2

Todas las variables del grupo 1 y el 2 fueron comparadas mediante ANOVA bifactorial para comprobar si deferían en el comportamiento en las mismas visitas de seguimiento. Todas las variables coincidieron en sus tendencias y a continuación se muestran las gráficas más importantes en el estudio de acuerdo a lo obtenido en los análisis del grupo 1 junto con sus índices estadísticos (véase Fig. 4.11 a 4.15).

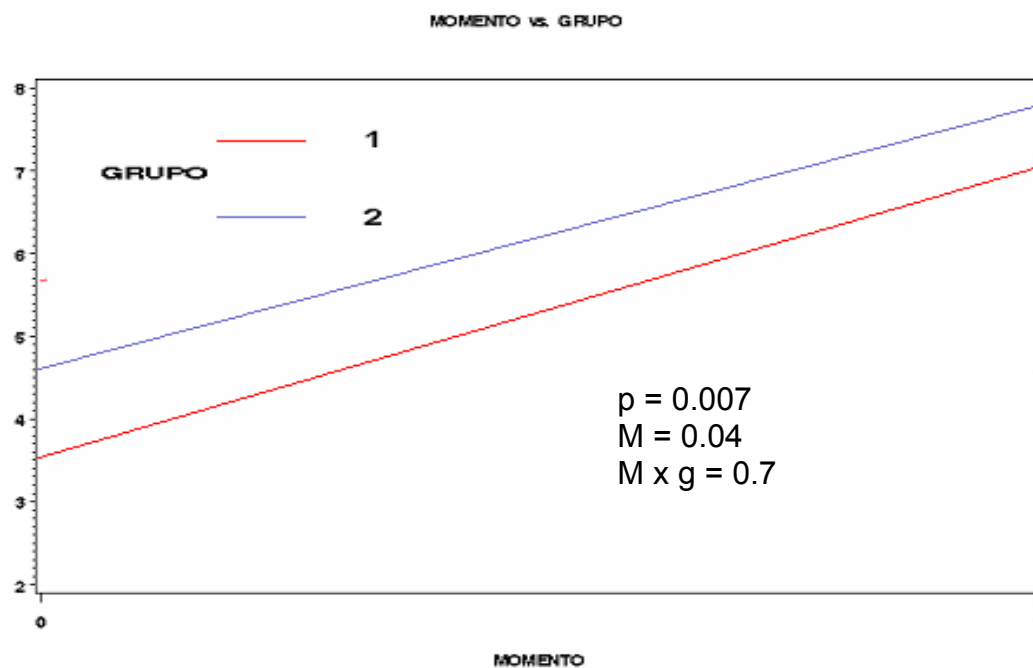


Figura 4.11A Queratocitos activados: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 a los 15 días desde el comienzo del tratamiento CRT.

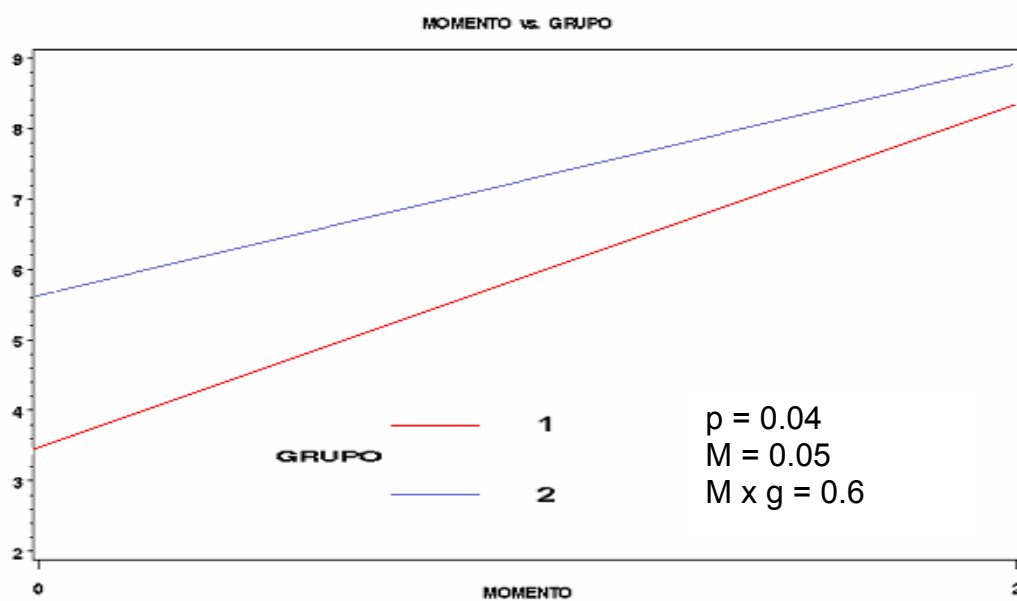


Figura 4.11B Queratocitos activados: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 al mes desde el comienzo del tratamiento CRT.

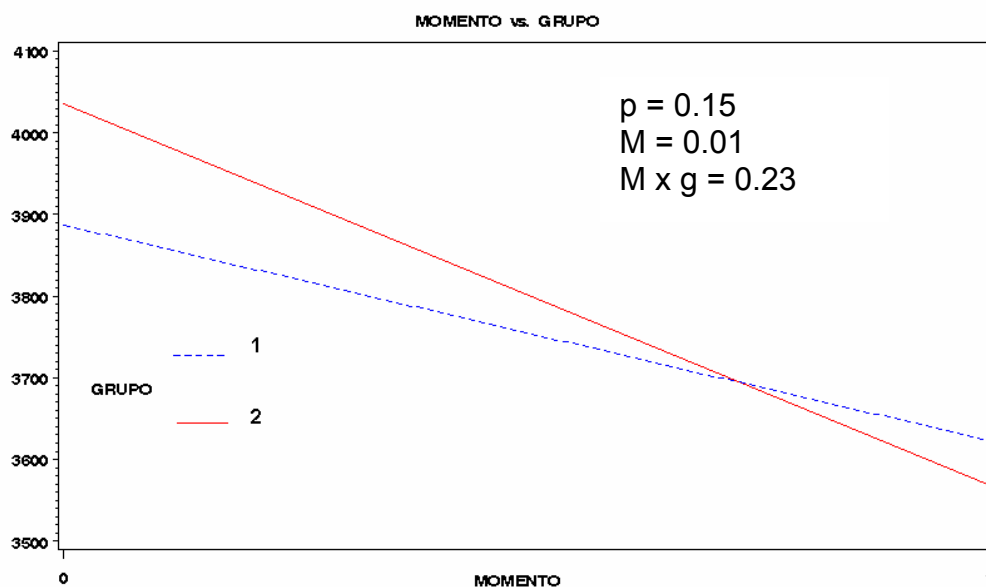


Figura 4.12A Densidad de las células basales: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 a los 15 días desde el comienzo del tratamiento CRT.

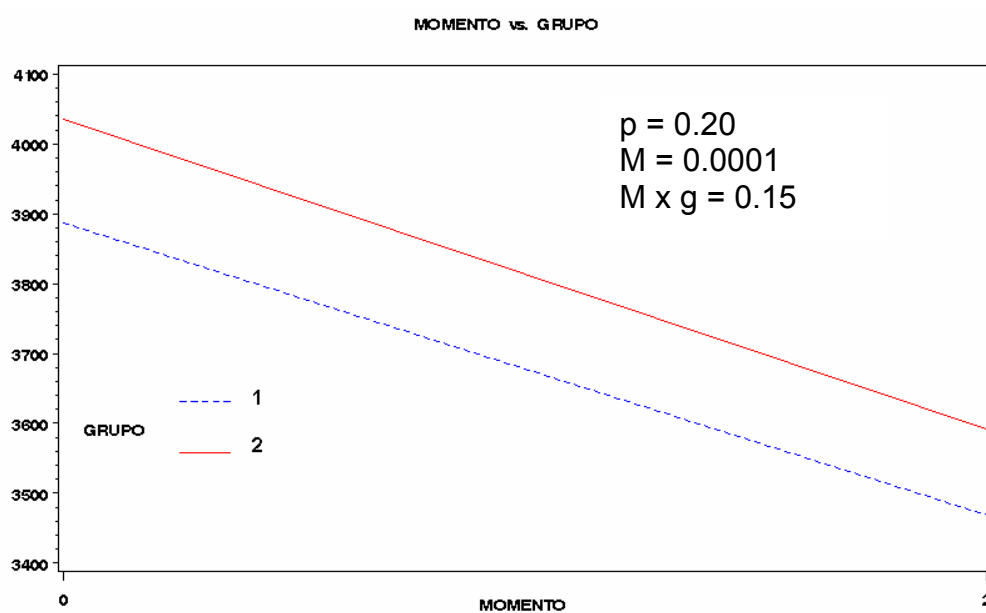


Figura 4.12B Densidad de las células basales: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 al mes desde el comienzo del tratamiento CRT.

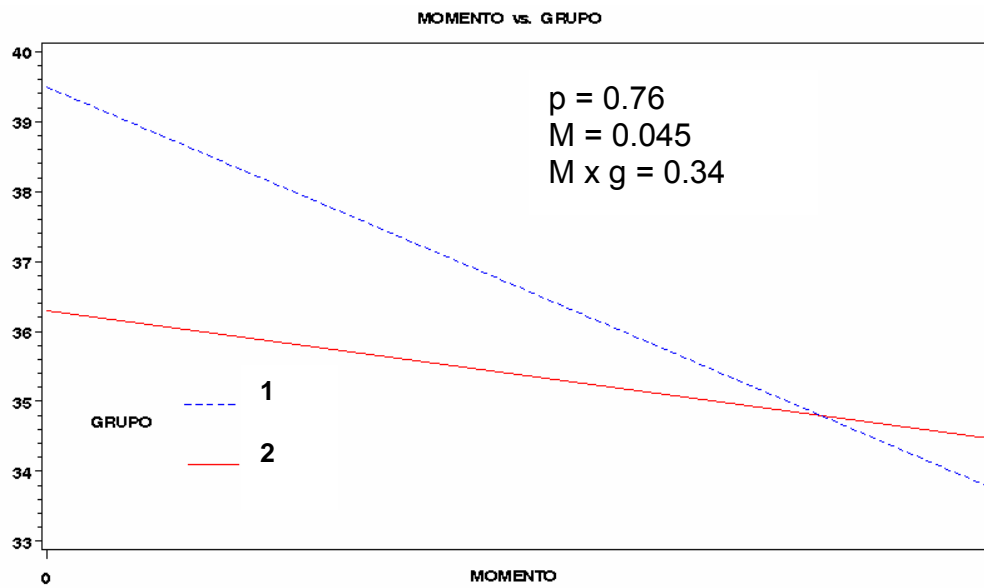


Figura 4.13A Espesor del epitelio corneal central: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 a los 15 días desde el comienzo del tratamiento CRT.

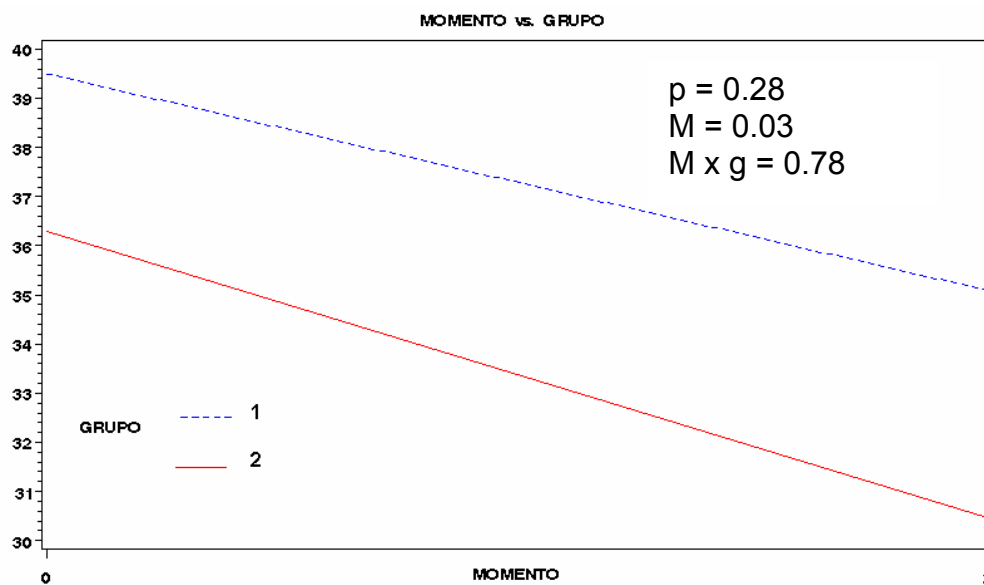


Figura 4.13B Espesor del epitelio corneal central: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 al mes desde el comienzo del tratamiento CRT.

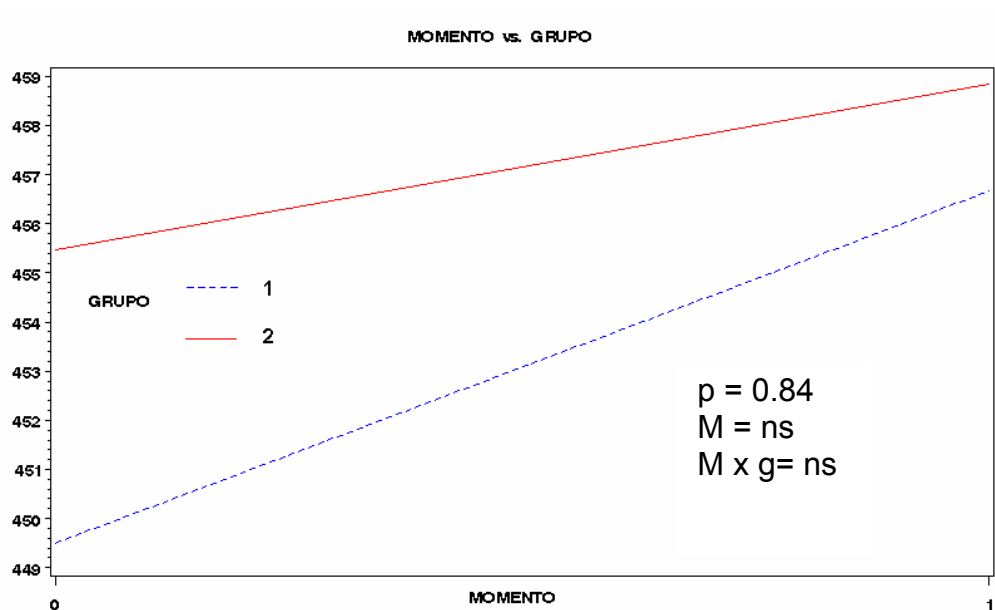


Figura 4.14A Espesor del estroma corneal central: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 a los 15 días desde el comienzo del tratamiento CRT.

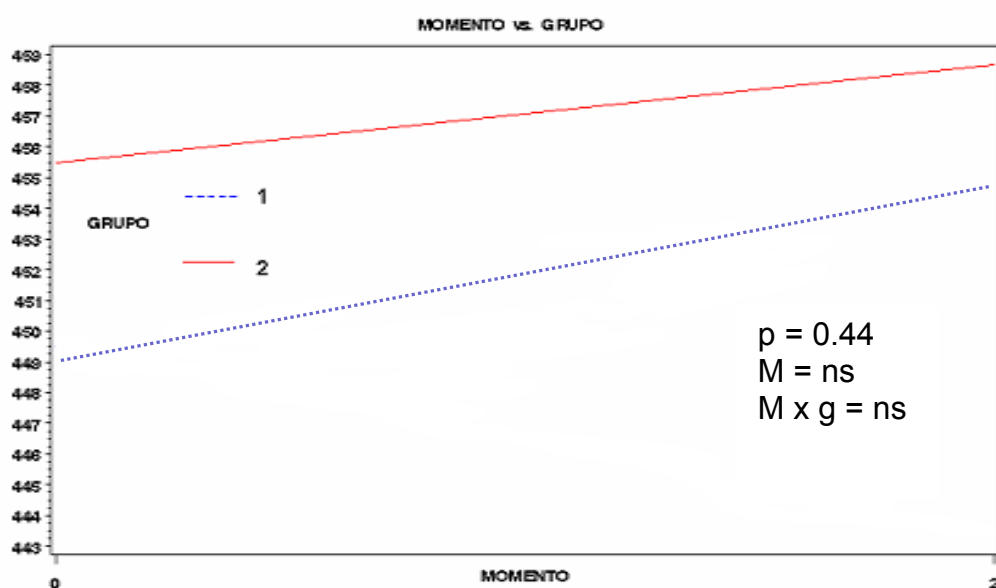


Figura 4.14B Espesor del estroma corneal central: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 al mes desde el comienzo del tratamiento CRT.

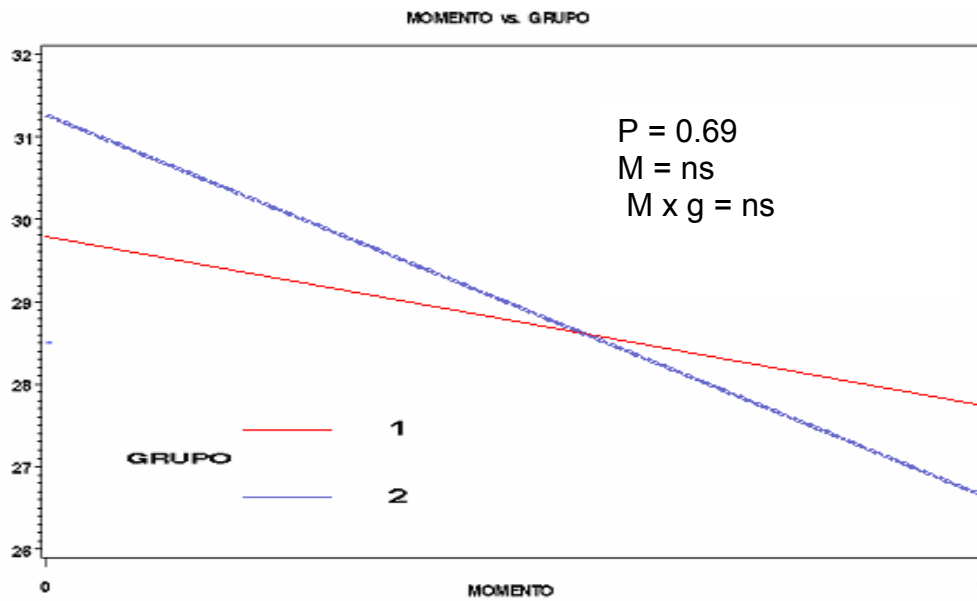


Figura 4.15A Espesor de la membrana de Bowman en córnea central: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 a los 15 días desde el comienzo del tratamiento.

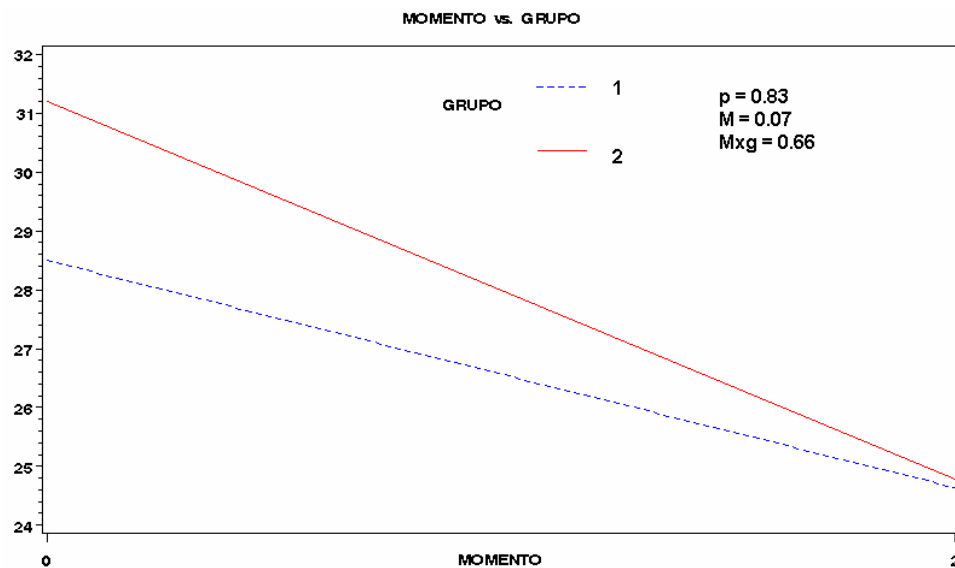


Figura 4.15B Espesor de la membrana de Bowman en córnea central: gráfica de interacción entre el grupo 1 y 2 al mes desde el comienzo del tratamiento CRT.

2.2.2 Grupo 2

La tabla 4.10 muestra los cambios morfológicos observados y los valores registrados para cada variable una vez concluido el tratamiento OKN. La microscopía confocal obtenida en la medida de 15 días después de la interrupción del tratamiento solamente fue fiable en 7 sujetos, este es el motivo de que en la tabla solo aparezcan los análisis de recuperación de las variables al mes. En la tabla 4.10 puede comprobarse que cambios estadísticamente significativos se obtuvieron 1) en el porcentaje de polimegatismo que aumentó llegando a su nivel máximo a los 12 meses de seguimiento, una vez se interrumpió el uso de las lentes de contacto, aunque hubo una recuperación en dicho porcentaje, la diferencia continuó siendo estadísticamente mayor que en la medida preliminar; y 2) en la densidad de células basales del epitelio que se redujo significativamente desde el inicio del tratamiento y continuó disminuida hasta la interrupción del tratamiento donde retorno a los valores preliminares.

Tabla 4.10: Comparación de variables morfológicas mediante análisis de muestras pareadas en todas las visitas de seguimiento.

Variable	A los 15 días	Al Mes	A los 3 Meses	A los 6 Meses	A los 12 Meses	1M finalizado OKN
	media \pm desviación estándar , n = 15					n = 14
Endotelio	8 \pm 233	-38 \pm 146	61 \pm 207	228 \pm 490	194 \pm 385	214 \pm 457
Polimegatismo	1.4 \pm 4.7	-0.6 \pm 4.1	1.1 \pm 6.1	0.4 \pm 5.7	7.6 \pm 7.2 * †	4.9 \pm 7.4 * †
Estroma posterior	57 \pm 141	47 \pm 133	41 \pm 92	-10 \pm 112	1 \pm 80	37 \pm 86
Estroma medio	9 \pm 121	16 \pm 110	27 \pm 91	17 \pm 98	-14 \pm 85	41 \pm 108
Estroma anterior	-56 \pm 239	-17 \pm 228	19 \pm 155	-27 \pm 187	-61 \pm 152	39 \pm 170
Queratocitos activados	2 \pm 2.7	2 \pm 4.7	3 \pm 4 *	7 \pm 6.3 * †	2 \pm 2.3	-2.3 \pm 1.7 * †
Fibras nerviosas	-0.3 \pm 2.8	-2 \pm 2.3	-1 \pm 2	-1.4 \pm 2	-1.6 \pm 4	-1.2 \pm 2
Epitelio basal	-499 \pm 506 * † n = 15	-416 \pm 138 * † n = 12	-425 \pm 453 * † n = 12	-480 \pm 708 n = 10	-705 \pm 567 * † n = 10	21 \pm 870 n = 14

n = número de ojos derechos. Denota diferencia estadística significativa * paired t-test , † test rangos

El análisis de ANOVA en la densidad celular del estroma anterior no fue diferente a lo largo del tiempo ($p > 0.05$) aunque detectó una reducción de la densidad de queratocitos en las medida de 6 meses cuando se analizaron los valores obtenidos en los ojos derechos. El mismo análisis, reveló que en el estroma anterior, la reducción fue significativa a los 6 y 12 meses (Anova, $p = 0.0208$ Fig. 4.16) cuando se analizaron los valores obtenidos en los 2 ojos de cada sujeto. Esta disminución recuperó los valores iniciales cuando se finalizó el tratamiento. La comparación de medias por la t-Student para muestras pareadas reveló densidades celulares similares en los tres niveles del estroma analizados cuando se analizaron los ojos derechos. (tabla 4.10). Como se mencionó en la sección de métodos, en el grupo 1, el conteo celular se realizó por dos métodos (Confocommander e ImageJ); en el estroma anterior se encontró que las densidad celular obtenida con cada uno de los métodos fue estadísticamente diferente, siendo menor la densidad celular obtenida con el imageJ ($p < 0.01$ Fig. 4.17) en la medida preliminar y en la de 13 meses. Sin embargo, la tendencia obtenida a lo largo del tiempo fue igual con los dos métodos. En los otros dos niveles del estroma analizados no hubo diferencias entre los valores obtenidos con ambos métodos. Estos resultados se analizaron considerando los ojos derechos y ambos ojos de cada sujeto y los resultados estadísticos fueron iguales.

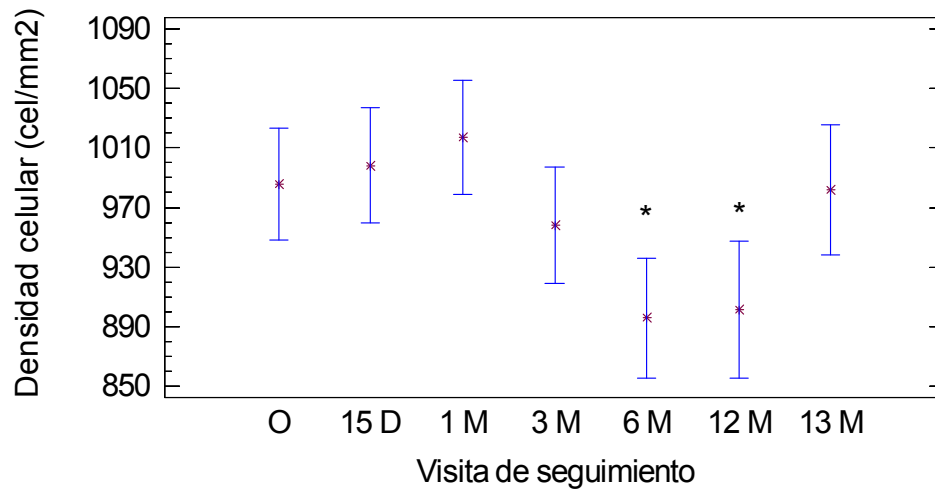


Figura 4.16 Cambios en la densidad celular del estroma anterior (cel/mm²) por análisis de varianza a lo largo del tiempo (ambos ojos, n = 30).
Media y la desviación estándar al nivel de confianza del 95%. *p < 0.05

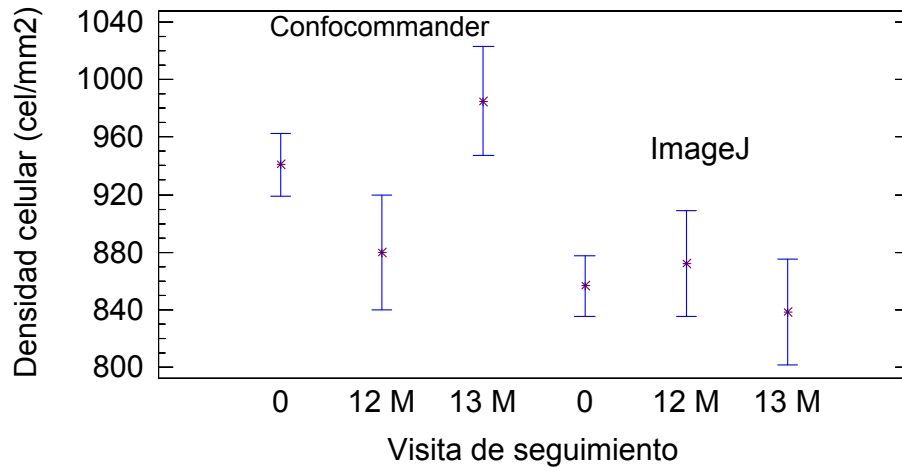


Figura 4.17 Cambios en la densidad celular del estroma anterior (cel/mm²) por análisis de varianza en función del método de conteo celular.
Media y desviación estándar al nivel de confianza del 95%.

La frecuencia de queratocitos activados aumentaron a lo largo del tiempo (Anova, $p = 0.0017$, Fig. 4.18), obteniendo el porcentaje máximo a los 6 meses desde el inicio del tratamiento. En la visita del año se recuperaron los valores preliminares y se mantuvieron así en la revisión de los 13 meses, es decir finalizado el tratamiento OKN. Por otro lado, la observación de las fibras nerviosas no estuvieron afectadas por el uso del tratamiento CRT en ninguna visita de seguimiento (tabla 4.10).

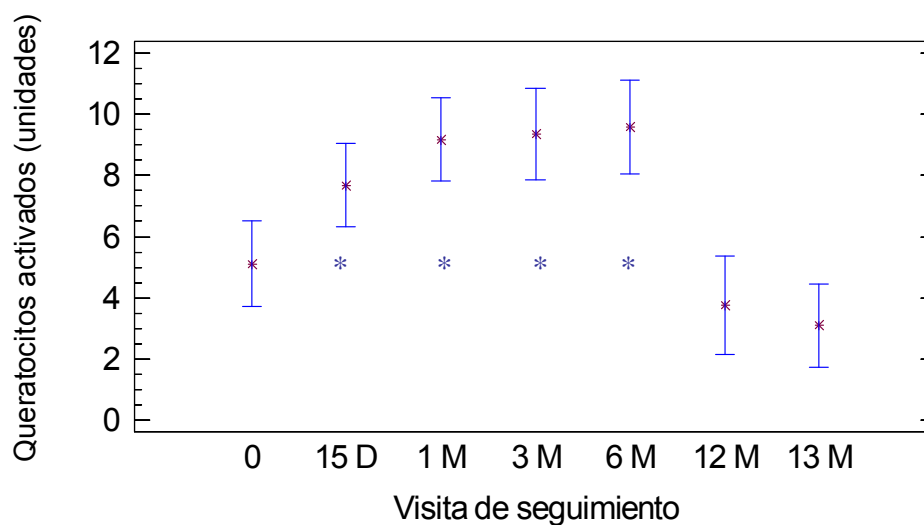


Figura 4.18 Cambios en el número de queratocitos activados por análisis de varianza a lo largo del tiempo.

Media y desviación estándar al nivel de confianza del 99%

El análisis de varianza indicó que la densidad celular del epitelio corneal disminuyó significativamente desde el comienzo del tratamiento y no recuperó los valores iniciales hasta la interrupción del tratamiento (Anova, $p < 0.01$, Fig. 4.19). Además, al igual que en el grupo 1 fue difícil distinguir las células epiteliales intermedias y superficiales del endotelio, por este motivo se valoró la visibilidad de las células en cada punto del tiempo evaluado. La frecuencia en el porcentaje obtenido (Fig. 4.20) revela un incremento significativo ($p < 0.05$) en la percepción de los tipos de células epiteliales citadas.

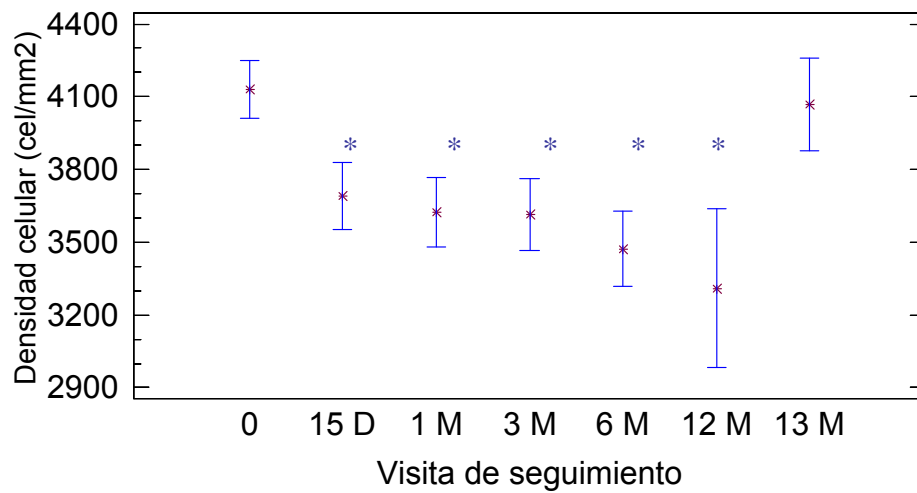


Figura 4.19 Cambios en la densidad de células basales del epitelio corneal por análisis de varianza en función del método de conteo celular. Media y desviación estándar al nivel de confianza del 99%.

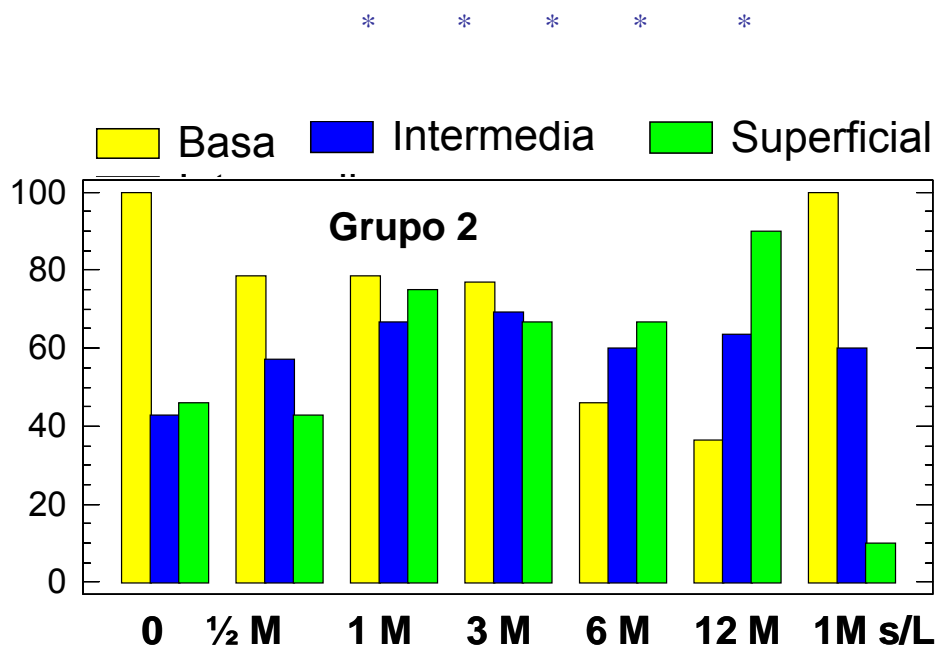


Figura 4.20 Porcentaje de ojos en los que fueron observadas los diferentes tipos de células epiteliales en las distintas visitas de seguimiento.

La altura y anchura de las células epiteliales pudieron valorarse en las células basales y en las superficiales (tabla 4.11). Las primeras no fueron diferentes en los puntos de seguimiento analizados, sin embargo se apreció una distribución celular más irregular y un empeoramiento en su percepción visual, al igual que paso en el grupo 1. Esta percepción sólo mejoró cuando se finalizó el uso de las lentes CRT. Tampoco fueron suficientemente claros los límites adyacentes de las células intermedias para poder medir las medidas establecidas. Por último, las células superficiales incrementaron su anchura y altura, pero únicamente alcanzó diferencia estadísticamente significativa el aumento de la anchura ($p < 0.01$) en la visita de los 12 meses. Este aumento volvió a los valores preliminares concluido el tratamiento, es decir en la visita de 13 meses.

Tabla 4.11 Altura y anchura de las células epiteliales (en micras) analizadas en la medida preliminar y al mes de tratamiento.

Célula Epitelial n = 15		Preliminar		A los 12 Meses		1M después de cesar OKN	
		Anchura (μm)	Altura (μm)	Anchura (μm)	Altura (μm)	Anchura (μm)	Altura (μm)
Basal	m \pm DE	14.7 \pm 1.9	14.4 \pm 2.1	16.1 \pm 2.4	14.7 \pm 2.3	13.6 \pm 2.7	13.1 \pm 2.6
	range	9.6-18.6	10.4-18.6	13.0-17.4	11.7-17.7	10.1-15.6	7.9-18.9
Superficial	m \pm DE	26.8 \pm 4.2	30.1 \pm 5.1	42.1 \pm 8.2 * †	32.9 \pm 4.1	27.0 \pm 3.9	26.9 \pm 3.7
	range	21.8-35.0	20.7-39.2	38.8-57.2	28.8-40.5	20.1-36.2	20.9-33.0

n = número de ojos derechos ó izquierdos, m = media, DE = desviación estándar. * y † Denota diferencia estadística significativa *(t-test pareado) < 0.05 y † (test rangos) < 0.05

Finalmente, la tabla 4.12 presenta los valores biométricos obtenidos en todos los puntos del tiempo evaluados. El espesor del epitelio central estuvo significativamente reducido en todas las valoraciones a lo largo del tiempo ($p < 0.05$ en todos los casos) excepto cuando se discontinuó el tratamiento OKN. El espesor central del endotelio y del estroma corneal no presentaron cambios

a lo largo del tiempo. Sin embargo, disminuyó significativamente el espesor definido como la suma de la membrana de Bowman y del plexo nervioso. Al analizar éstos últimos espesores por separado, se comprobó que la disminución afectaba al espesor del plexo nervioso subbasal y no al espesor de la membrana de Bowman, que aunque disminuyó, el cambio producido con el tratamiento no alcanzó relevancia estadística. También parece importante reseñar que estos cambios no se recuperaron y las variables continuaron disminuidas cuando se finalizó el tratamiento (tabla 4.12).

Tabla 4.12 Análisis comparativo de muestras pareadas para los diferentes espesores corneales en las todas las visitas de seguimiento.

Espesor Central	A los 15 días	Al Mes	A los 3 Meses	A los 6 Meses	A los 12 Meses	1M después de cesar OKN
	m ± DE , n = 15					n = 14
Total	0.23 ± 26	0.1 ± 28	-11 ± 23	-4 ± 18	-13 ± 35	-10 ± 24
Endotelio	-0.3 ± 1.8	-1.3 ± 3	-1.2 ± 3.7	-0.4 ± 2.9	0.5 ± 6.3	0.3 ± 4.5
Estroma	3.4 ± 20	3.2 ± 32	-2.1 ± 25	3.5 ± 28	1.6 ± 30	-12.8 ± 28
Bowman + Plexo N Subbasal	-5.8 ± 9.1	-7.0 ± 7.3 †	-8.5 ± 6.6 †	-5.4 ± 7.6 *	-6.2 ± 8.6 †	-9.1 ± 8.6 †
Bowman	-2.5 ± 4.7	-2.6 ± 4.8	-3.0 ± 4.9	-2.4 ± 5.6	-1.9 ± 6.0	-3.2 ± 5.9
Plexo N Subbasal	-3.3 ± 7.7	-4.4 ± 7.0 *	-5.5 ± 5.9 *	-3.0 ± 5.9	-4.3 ± 7.4	-5.9 ± 6.9 *
Epitelio sin Plexo subbasal	-7.9 ± 5.4 * †	-10.2 ± 5.5 * †	-7.0 ± 9.4 * †	-6.3 ± 6.5 * †	-9.5 ± 6.4 * †	0.3 ± 8.8
Epitelio con Plexo subbasal	-12 ± 9.4 †	-16.2 ± 10.8 †	-8.5 ± 10.4 *	-5.9 ± 7.6 *	-10 ± 6.8 †	-7.6 ± 7.9 *

n = número de ojos derechos ó izquierdos, m = media, DE = desviación estándar. Denota diferencia estadística significativa * < 0.05 y † < 0.01

2.3 Grupo LASIK

En el grupo intervenido por cirugía LASIK (**grupo 4**) no se obtuvieron cambios en la densidad celular endotelial ni en los índices de polimegatismo y pleomorfismo. Los valores medios junto con la desviación estándar de éstas variables se muestran en la tabla 4.13. También esa misma tabla aparecen la densidad celular obtenida en el estroma anterior y posterior en las diferentes visitas de seguimiento. Después de la intervención, la densidad del estroma anterior disminuyó el 19 % y 12% a los 15 días y 6 meses, respectivamente ($p < 0.01$ en los dos casos, análisis de varianza, Fig. 4.21). Sin embargo, la comparación pos hoc por el análisis de muestras pareadas indicó que esta reducción no era estadísticamente significativa en la visita de los 6 meses. Igualmente sucedió con la densidad celular del estroma posterior que disminuyó el 9% y el 7%, a los 15 días y 6 meses después de la cirugía refractiva (Fig. 4.21). Esta reducción en la densidad celular fue estadísticamente significativa por análisis de varianza aunque la comparación por t-Student para muestras pareadas falló en obtener diferencias entre las medidas.

Tabla 4.13: Media y desviación estándar de las variables morfológicas analizadas en el grupo 4 en las distintas visitas de seguimiento.				
Variable	Preliminar	A los 15 días	A los 6 meses	p-valor
	m ± DE			
Endotelio (cel/mm²)	3234 ± 260	3139 ± 277	3211 ± 310	ns
Polimegatismo (%)	50 ± 12	55 ± 13	56 ± 16	ns
Pleomorfismo (%)	34 ± 10	38 ± 12	36 ± 12	ns
Estroma Anterior (cel/mm²)	895 ± 174	724 ± 126	790 ± 111	* < 0.01 ϕ < 0.01 # < 0.01 ψ > 0.05
Estroma Posterior (cel/mm²)	736 ± 95	668 ± 84	682 ± 95	* < 0.04 ϕ < 0.05 # < 0.01 ψ > 0.05

m = media, DE = desviación estándar. * Análisis de varianza y φ Kruskal Wallis.

Test rangos y Wilcoxon preliminar versus 15 días.

ψ Test rangos y Wilcoxon preliminar versus 6 meses

Otros análisis morfológicos revelaron que el plexo nervioso subbasal y la membrana de Bowman pudieron detectarse en el 94% de los sujetos en la visita pre-operatoria, en ninguno de los ojos a los 15 días y en el 23.5% a los 6 meses. Los micropuntos estuvieron ausentes en la medida preliminar pero fueron observados en el 100% y 94% de los casos en las 2 visitas de

seguimiento, respectivamente. Los queratocitos activados sólo estuvieron presentes después de la cirugía refractiva en un porcentaje que alcanzó aproximadamente el 83% en ambas visitas postoperatorias.

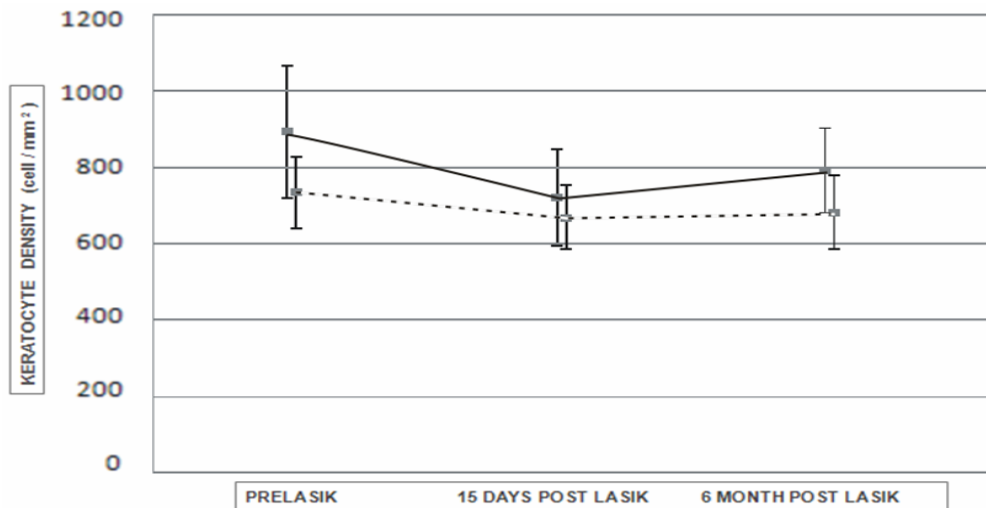


Figura 4.21 Cambios en la densidad celular (cel/mm^2) del estroma anterior y posterior por análisis de varianza a lo largo del tiempo.

La barra representa la media y la desviación estándar al nivel de confianza del 95%.

Línea continua: Estroma Anterior, línea discontinua: Estroma Posterior

2.4 Comparativa grupos

Para finalizar el capítulo de resultados, se presentan 2 gráficas donde se puede observar la comparativa del valor medio de la densidad celular del estroma anterior y posterior en las visitas de seguimiento coincidentes entre los grupos de estudio (Fig. 4.22 y 4.23).

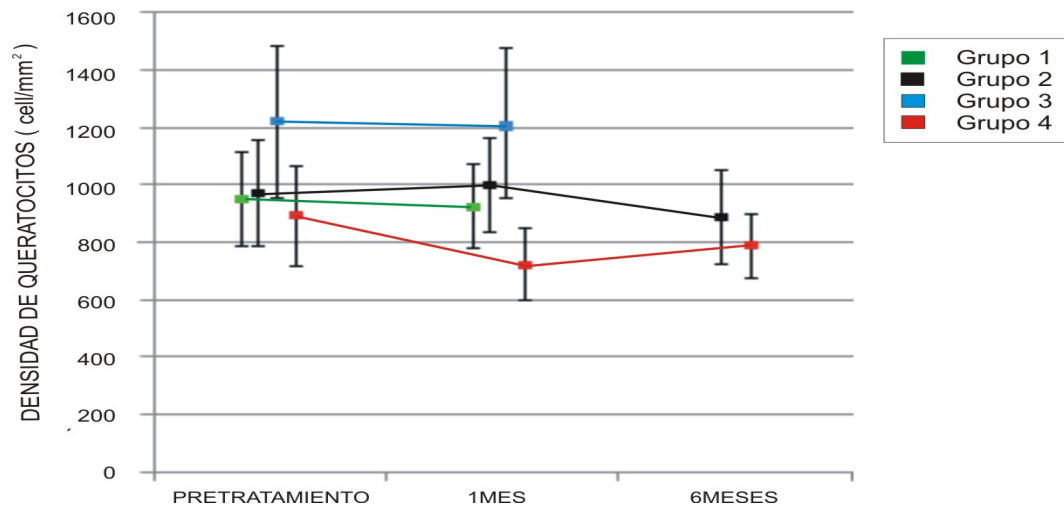


Figura 4.22 Cambios en el valor medio de la densidad celular (cel/mm^2) del estroma anterior en los 4 grupos de estudio a lo largo del tiempo.

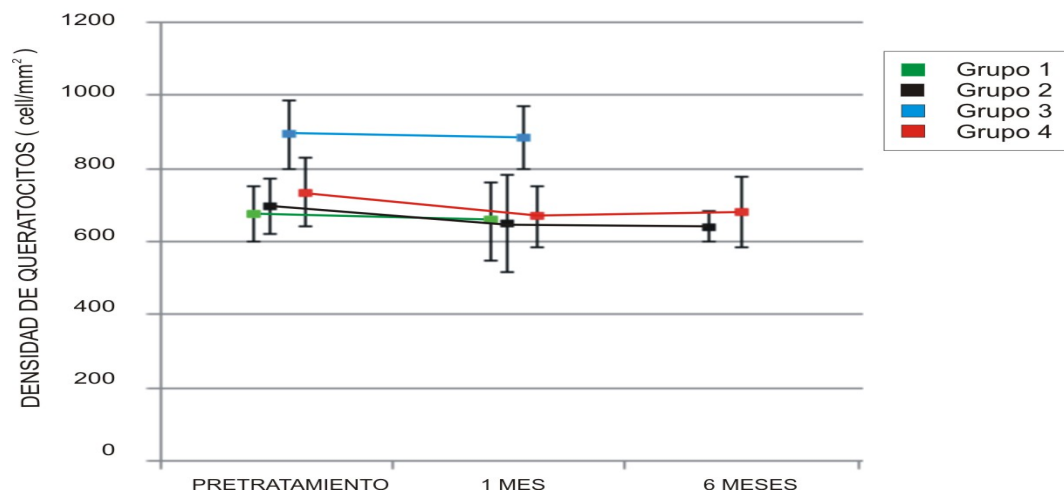


Figura 4.23 Cambios en el valor medio de la densidad celular (cel/mm^2) del estroma posterior en los 4 grupos del estudio a lo largo del tiempo.

2.5 Encuesta de Satisfacción

El grado de satisfacción general de los pacientes con OKN fue alto para el 93% de los participantes. En la tabla 4.14 pueden comprobarse las respuestas obtenidas a las cuestiones incluidas en el cuestionario realizado a los 12 meses desde el comienzo del tratamiento CRT.

Tabla 4.14: Grado de satisfacción obtenido en el grupo 2 (OKN)			
	Bajo	Medio	Alto
Visión de lejos nocturna	21.43% n = 3	21.43% n = 3	57.14% n = 8
Visión de lejos diurna			100% n =14
Visión de cerca diurna		14.29% n =2	85.71% n =12
Conducción diurna			100% n =14
Conducción nocturna	21.43% n = 3	35.71% n = 5	42.86% n = 6
Ver televisión/cine		7.14% n = 1	92.86% n = 13
Actividades deportivas			100% n =14
Salir de compras			100% n =14
Usando el ordenador	7.14% n = 1	35.71% n = 5	57.14% n = 8
Grado de satisfacción en general		7.14% n = 1	92.86% n = 13

n = número de sujetos

V. DISCUSIÓN

1. REFRACCIÓN, AGUDEZA VISUAL Y RADIOS CORNEALES

En el grupo 1, la refracción media y la agudeza visual de alto contraste (no compensada) obtenida después de 1 mes de tratamiento están en el rango de lo obtenido por otros autores (ver tabla 5.1)

Tabla 5.1. Resumen de valores refractivos y agudeza visual obtenidas en otros estudios de OKN		
Autor	Refracción	Agudeza Visual Alto Contraste
Joslin 2003	-0.22 ± 0.38	-0.07± 0.18
Owens 2004	0.01 ± 0.60	--
Hiraoka 2004	-0.16 ± 0.33	-0.07± 0.10
Maldonado 2005	-0.17 ± 0.50	-0.04 ± 0.10
Hiraoka 2006	0.09 ± 0.27	-0.07± 0.10
Hiraoka 2007	-0.20 ± 0,35	0.09± 0.06.
Stillitano 2008	0.24 ± 0.71	0.00 ± 0.01
Nieto (grupo 1)	0.30 ± 0.6	-0.05± 0.09
Nieto (grupo 2)	0.20 ± 0.4	-0.01± 0.07

En cuanto a la agudeza visual de bajo contraste el único estudio ^{Stillitano et al. 2008} que aporta este valor, utilizando el mismo método de medida que nosotros, obtiene un empeoramiento significativo a los 3 meses de 0.02 ± 0.09 a 0.11 ± 0.14 mientras que en nuestro estudio se obtiene una mejoría de 0.11 ± 0.06 a 0.05 ± 0.08 . Sin embargo, no existen diferencias entre nuestras medias y las obtenidas por estos autores ^{Stillitano et al. 2008} aunque si una inversión

respecto a que en ellos encontraron un empeoramiento de la variable en vez de una mejoría, como hemos obtenido nosotros. En dicho estudio se utilizó una muestra de equivalente esférico previa al tratamiento de -2.38 ± 0.98 dioptrías obteniendo un valor postratamiento de -0.24 ± 0.71 D. En nuestro caso, partiendo de valores casi idénticos -2.30 ± 1 dioptrías se obtuvo un valor medio final muy aproximado pero con una desviación estándar de 0.25 dioptrías menor. Por lo tanto, las diferencias podrían estar basadas en esta presencia de mayor miopía al final de su estudio, bien porque la distribución de la muestra inicial presentara mayor incidencia de miopes más altos que en nuestro caso (aproximadamente el 67% de los participantes presentaban una magnitud inferior a 2 D. de miopía) o bien porque el efecto ortoqueratológico fuese menor al utilizar unas lentes de geometría inversa distintas a las usadas en nuestro estudio.

Los dos meridianos corneales disminuyeron su potencia sin embargo únicamente el meridiano más plano se relacionó con la disminución del error refractivo tanto en la magnitud de la esfera como en la del equivalente esférico. Este mismo resultado fue obtenido en otros estudios ^{Mountford et al. 1997, Tsukiyama et al. 2008} Esta relación estadísticamente significativa parece explicar los casos de miopías más bajas, los cuales han disminuido una potencia corneal similar a la magnitud de su miopía previa al tratamiento. Para dar explicación a los casos en los que la cuantía del error refractivo disminuye más que la potencia corneal habría que considerar la contribución de la zona periférica media de la córnea como también argumentaron ^{Lu et al. 2004, Alharbi et al. 2005} en trabajos previos. La excentricidad corneal se transformó en valores positivos lo que indica que la topografía corneal cambió de prolata a oblata en la zona central de la córnea y el porcentaje de cambio estuvo relacionado con el cambio del error refractivo al igual que encontraron Hage et al. ^{Hage et al. 2007} en su estudio.

En el grupo 2, donde se evaluaron los efectos de la OKN a largo plazo se obtuvieron resultados similares en todas las variables refractivas mencionadas como puede apreciarse en la tabla 5.1 y que se han analizado en el párrafo anterior. Un hecho importante de reseñar fue el empeoramiento obtenido en la visita de tres meses en todas las variables mencionadas siendo

necesario indicar que esta revisión coincidió con los exámenes finales de los participantes, todos estudiantes universitarios. Algunos de los pacientes indicaron que en ese momento estaban durmiendo pocas horas y en algunos casos no habían usado la lente la noche anterior a la revisión o alguna de las noches en esa semana, lo que produjo un empeoramiento en las agudezas visuales y una recuperación en el error refractivo y los radios corneales. Se confirmó la veracidad de este hecho al comprobar que en la revisión de los 6 meses estas variables volvieron a obtener valores similares a los de la visita del mes. En esta medida, el uso de las lentes de contacto fue el recomendado y la miopía volvió a disminuir, los radios de la córnea se aplanaron y las agudezas visuales mejoraron. Este suceso no provocado en nuestro estudio, verifica la recuperación de las variables tratadas en este apartado, hecho que ya ha sido confirmado en otros estudios. En nuestra investigación también variables de refracción, radios corneales, asfericidad corneal y agudezas visuales retornaron a sus valores preliminares desde los 15 días de interrumpir el tratamiento coincidiendo con lo obtenido por otros autores ^{Hiraoka et al. 2009, Kobayashi et al. 2008}. Sin embargo, es necesario mencionar una apreciación clínica, esto es que se encontró una tendencia a presentar una miopía más baja que la preliminar a los 15 días de valorar la reversión de esta variable y que no alcanzó el nivel previo hasta el mes desde la interrupción del uso de las lentes de contacto. Este comportamiento se observó sobre todo, en los sujetos que presentaban una magnitud más alta de miopía al comienzo del tratamiento.

Según Swarbrick ^{Swarbrick 2006}, algunos estudios sobre satisfacción de pacientes que usan ortoqueratología nocturna indican que una selección óptima produce buenos resultados en el grado de satisfacción de los pacientes. Nuestros pacientes fueron jóvenes voluntarios que fueron elegidos además de por cumplir los criterios de inclusión en el estudio por su interés en utilizar este tipo de tratamiento. De hecho, un 93 % de los sujetos presentaban un grado de satisfacción general alto al año de uso, con una disminución en este porcentaje en lo que se refiere a conducción ó visión nocturna. Sin embargo, ninguno de nuestros pacientes prefería volver a su tipo de compensación óptica anterior al tratamiento. En dos casos aquejados de problemas en la conducción nocturna, prefirieron tener una compensación óptica baja (-0.50 AO) que volver

a su tratamiento óptico previo a la ortoqueratología. Este resultado confirma que la CRT mejora la calidad de vida de un sujeto miope al conseguir la independencia de la compensación óptica como también ha sugerido Bernsten et al.^{Bernsten 2006}.

En el grupo 4, intervenido por cirugía refractiva LASIK obtuvo una disminución del defecto refractivo y un aplanamiento de los radios corneales. La disminución de agudeza visual en la valoración de los 15 días probablemente se deba a que el tratamiento no estaba establecido, los pacientes utilizaban medicación y algunos de ellos presentaban queratitis corneales leves. Sin embargo a los 6 meses, cuando el tratamiento estaba establecido, las agudezas visuales fueron similares a las obtenidas en la evaluación previa a la cirugía refractiva.

2. HISTOLOGÍA CELULAR

La densidad celular del endotelio corneal, de los 3 niveles del estroma analizados y del epitelio corneal obtenidas en todos los grupos evaluados en esta investigación, estuvieron en el rango de los valores encontrados en otros estudios realizados en la córnea humana normal^{Szaflik et al. 2007, McLaren et al. 2005, Efron et al. 2002}. El grupo control obtuvo diferencias estadísticamente significativas en la densidad celular de todas las capas corneales evaluadas comparada con los otros 3 grupos de estudio. Concretamente, la densidad endotelial fue menor y sin embargo, la densidad celular obtenida en los tres niveles del estroma fue mayor, aunque siempre estando los valores dentro de la normalidad.

El microscopio confocal adquiere imágenes del centro de la córnea y dado que el área visualizada es muy pequeña, Sheng et al.^{Sheng et al. 2007} ha sugerido que la región observada puede variar de imagen a imagen incluso cuando la evaluación ha sido realizada con el mismo instrumento. Además, también sugiere que es común que el área observada dependa de la cooperación del sujeto durante el test de manera que los movimientos oculares podrían determinar un área más periférica que sustente los resultados obtenidos en el grupo control. Cabe resaltar que este grupo nunca había usado

lentes de contacto y que el procedimiento de la MC fue difícil de obtener y tuvo que repetirse varias veces, pues la prueba supuso mucha ansiedad a la mayoría de los sujetos de dicho grupo.

2.1 Endotelio

La densidad celular del endotelio no varió al mes de tratamiento ni en el **grupo 1, ni en el grupo control**. Tampoco se vieron afectados los índices que describen el estado fisiológico del endotelio. Por consiguiente, se puede afirmar que la OKN a corto plazo no supone ningún perjuicio para el endotelio corneal.

El segundo grupo **(2)** de estudio fue diseñado para examinar los cambios inducidos en la morfología corneal por el uso de CRT durante largos periodos de tiempo y para determinar si estos cambios eran reversibles después de interrumpir el tratamiento. En dicho grupo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la densidad celular del endotelio corneal, aunque ésta variable fue ligeramente más alta en las visitas de seguimiento en comparación a la medida preliminar. Sin embargo, el polimegatismo endotelial sí aumentó significativamente al año del tratamiento y aunque mejoró tras la interrupción de la OKN, no recuperó los niveles observados en la visita preliminar siendo pues este índice significativamente mayor a los 13 meses comparado a la primera evaluación. Estudios previos Odenthal et al. 2005, Patel et al. 2002 han informado de que el polimegatismo y pleomorfismo endotelial puede incrementarse en usuarios de lentes de contacto de larga duración, si bien estas anomalías se ven reducidas por el aumento de la permeabilidad al oxígeno de las lentes de contacto. También en el estudio de Esgin & Erda ^{Esgin 2002} se concluye que las lentes permeables al gas de alta transmisibilidad pueden inducir polimegatismo corneal al igual que otro tipo de lentes de contacto. Odenthal ^{Odenthal et al. 2005} afirma que el polimegatismo y pleomorfismo endotelial inducido por lentes PMMA o HEMA es en parte reversible, como ha sido encontrado en nuestro estudio de OKN. También se ha referenciado que el polimegatismo endotelial aunque es un efecto adverso no causa un déficit funcional sobre la córnea ^{Bourne et al. 2001}.

Por último, podemos afirmar que en el grupo 4, la cirugía refractiva LASIK no influyó en el endotelio corneal que mantuvo la densidad celular y sus índices fisiológicos similares a los preliminares 6 meses después de la intervención quirúrgica. Este mismo hallazgo ha sido obtenido en otros estudios Kent et al. 1999, Pérez-Santoja et al. 1997, Pérez-Gómez et al. 2003 donde se concluye que el LASIK no daña al endotelio corneal 12 meses después de la cirugía refractiva.

2.2 Estroma

En el grupo 1, la densidad celular de los tres niveles del estroma disminuyeron ligeramente a los 15 días desde el inicio del tratamiento CRT aunque sin alcanzar diferencia estadísticamente significativa. Después de un mes, estas variables recuperaron sus valores preliminares. La densidad celular de las tres capas del estroma disminuyó aproximadamente un 5% a los 15 días desde el comienzo del tratamiento. Zong et al. Zong et al. 2009 informan de unas proporciones de disminución de queratocitos similares (8%), 8 horas después de usar lentes OKN y ellos encontraron esta diferencia significativamente menor. Además, estos mismos autores obtienen una disminución de la densidad de queratocitos del estroma después de 5 años de OKN cuando comparan los valores obtenidos con un grupo control no usuarios de lentes de contacto. En nuestro estudio, la densidad de queratocitos obtuvo diferencias significativas entre el grupo OKN y el grupo control en la medida preliminar, por lo que si hubiésemos comparado simplemente nuestro grupo 1 después de un mes de uso del tratamiento con nuestro grupo control habríamos encontrado diferencias significativamente menores y habríamos concluido que en un periodo corto se reduce la densidad celular, motivo por el que pensamos que la reducción de la que informa Zong et al. Zong et al. 2009 pudiera ser un artefacto de las medidas comparadas. En nuestra opinión, los mismos sujetos deben ser evaluados en largos periodos de tiempo de utilización del tratamiento OKN para comprobar los cambios, su persistencia y su posible recuperación. Por otro lado, otro estudio Hollingsworth & Efron 2004 encontró que la densidad de queratocitos no se veía afectada por la utilización de lentes rígidas. Las lentes utilizadas en nuestro estudio son permeables al gas con una transmisibilidad al oxígeno bastante superior a las lentes rígidas, por lo que estos resultados coincidirían

con los nuestros. Además, la recuperación clínica de la densidad de los queratocitos observada en la revisión del mes sugiere que la pérdida celular a los 15 días, no es real y que posiblemente sea debida a un leve edema corneal presente en dicha visita de seguimiento. Esta hipótesis se ve apoyada por dos motivos: 1) en nuestros pacientes, el espesor del estroma se encuentra engrosado y el del epitelio disminuido y 2) se observan un porcentaje de casos con pliegues corneales no observados en la fase preliminar al tratamiento. Estos cambios estructurales se presentan cuando existe un edema corneal de un grado inferior al 10%. Según Efron et al. ^{Efron et al. 2002}, la pérdida de queratocitos es una falsa suposición en presencia de un edema corneal, ya que en tal caso se crea un artefacto visual que enmascara la visibilidad de los núcleos de los queratocitos, por la presencia de haze corneal, y por tanto, provoca una reducción aparente de la densidad celular.

En este mismo grupo y en los sujetos que pudo llevarse a cabo la evaluación de la MC en la periferia, se obtuvo una disminución significativa de la densidad celular del estroma anterior en el área situada a 2mm por debajo del apex corneal cifrada aproximadamente en el 15% de reducción. En este caso, el engrosamiento del estroma corneal fue similar en la porción periférica que en la central por tanto, sólo una parte de ese 15% de reducción puede atribuirse a las causas anteriormente mencionadas. Por otro lado este efecto secundario presenta una potencia estadística del 99% y sería poco común que fuesen casuales aunque el menor tamaño de muestra sugiere que es un dato a comprobar en futuras investigaciones.

En el grupo 2, la densidad celular de los tres niveles del estroma analizados se mantuvieron estadísticamente estables durante el periodo analizado aunque clínicamente se observó una disminución en su cuantía. Además, en el estroma se observó un aumento en la presencia de queratocitos activados, particularmente en el estroma anterior. Clínicamente, la densidad media del estroma anterior cayo un 7% al año y volvió al valor previo al tratamiento después de 1 mes de interrumpir la OKN. En nuestro estudio a largo plazo se confirmaría que la pérdida de la densidad celular

obtenida por Zhong et al.^{Zhong et al. 2009} y, de la que hablamos en la discusión de los hallazgos del grupo 1, representa un artefacto ya que el hecho de seguir a los mismos pacientes durante un periodo de tiempo prolongado y verificar que sucede al interrumpir el tratamiento, aporta solidez a nuestros resultados. A nuestro conocimiento, este estudio representa la primera investigación publicada que evalúa los cambios morfológicos de la córnea de esta manera. Nuestros hallazgos coinciden con otro estudio^{Hollingsworth & Efron 2004} que encuentra que la densidad de queratocitos no se ve alterada por el uso de lentes de contacto rígidas. La recuperación que nosotros observamos (se recuerda que la diferencia no es estadísticamente significativa) sugiere que la pérdida celular no es real y que la magnitud de pérdida de queratocitos parece ser equivalente al grado de edema correal como sugiere Efron et al.^{Efron et al 2002}, En nuestros pacientes, el estroma corneal se engrosó aproximadamente un 3% lo que justificaría la reducción clínica observada en esta variable. También, al menos en parte, esta reducción no significativa de queratocitos en el estroma anterior puede atribuirse a una redistribución celular, como se ha detectado en el grupo 1 de este estudio donde la densidad celular fue más alta en la córnea central y después de 1 mes de uso de OKN fue más alta en la periferia corneal en los 3 niveles del estroma (Nieto-Bona et al. Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal cell morphology and corneal thickness, aceptado). Asimismo, la pérdida aparente de la densidad celular estaría unida a la menor claridad estromal como fue descrito por Efron^{Efron 2007} y mencionada anteriormente, en el apartado de discusión del grupo 1.

Otro factor que da fiabilidad a los resultados obtenidos es el hecho de haber realizado dos métodos de conteo celular para determinar la densidad de queratocitos del estroma. Ambos métodos encuentran los cambios similares y se llega a la misma conclusión excepto en el estroma anterior donde el conteo celular obtenido con el software ImageJ es significativamente menor que el conteo celular realizado con el Confocommander en las medidas comparadas correspondiente a la visita preliminar y a la de 13 meses. Mc Laren et al.^{Mc Laren et al. 2007} sugieren que este método es más objetivo y mejora la repetibilidad y la precisión del conteo celular, en imágenes confocales de la córnea. Nosotros estamos totalmente de acuerdo con esta afirmación pues

clínicamente las imágenes obtenidas del estroma, particularmente del estroma anterior presentaban menor claridad durante las visitas en las que se estaba utilizando el tratamiento ortoqueratológico siendo mucho más difícil para nosotros estar seguros de que el queratocito que se estaba midiendo estaba o no en la imagen analizada. Por este motivo se introdujo en el estudio, la valoración del segundo método de conteo celular, únicamente en el estroma corneal que fue donde se presentó tal problemática.

Los queratocitos activados se definieron como queratocitos con un núcleo de alta reflectividad. Esta mayor actividad del núcleo se presenta en varios procesos celulares: apoptosis, proliferación, migración, transformación y necrosis. Estos procesos son inducidos en respuesta a la reparación de una lesión corneal ^{Wilson et al. 2001}. Dado que el epitelio corneal, el estroma corneal y el film lagrimal contribuyen al mantenimiento de la integridad de la superficie ocular, es posible que, en nuestros pacientes, este aumento en la presencia de queratocitos activados se vea influenciado por el engrosamiento estromal, y particularmente por los cambios epiteliales que se analizarán posteriormente. Este hallazgo puede relacionarse con el estrés corneal que induce hipoxia durante el tratamiento como sugieren en su estudio Choy et al. ^{Choy et al. 2004} quienes obtuvieron cambios en los componentes de la lágrima después de una noche de uso de tratamiento OKN.

En general, los cambios inducidos por la OKN pueden ser de naturaleza fisiológica (edema), mecánica (presión de las lentes) ó bioquímica (mediada por células). Wilson et al. ^{Wilson et al. 1996} informan que las células epiteliales liberan gran variedad de factores tales como las citoquinas, en respuesta a los cambios en su medio ambiente. De acuerdo a otro estudio de éstos mismos autores ^{Wilson 2007}, algunas fuentes de estrés corneal tales como la presión ejercida por la lente de contacto sobre el epitelio corneal podrían provocar apoptosis de los queratocitos del estroma. La apoptosis sucede inmediatamente después de cualquier lesión corneal y dependiendo del tipo y de la extensión de la misma, puede persistir en el tejido durante meses o incluso años. Investigaciones recientes sobre la cicatrización del estroma han revelado la mayor presencia de queratocitos activados en córneas que

presentan un proceso activo de cicatrización. Por ejemplo, Møller-Pedersen et al.^{Møller-Pedersen et al. 1998} mostraron que, en córneas de conejo, el haz corneal secundario a queratectomía fotorefractiva se debía al incremento en la reflectividad y la migración de los queratocitos activados. Hallazgos similares han sido encontrados en humanos. En las etapas iniciales de la activación de queratocitos, su núcleo se hace más visible, por tanto una respuesta de cicatrización mas intensa resulta en que los cuerpos celulares se conviertan proporcionalmente en más visibles^{Møller-Pedersen et al. 2000}. Otros estudios realizados con microscopía electrónica de transmisión^{Ohno et al. 2002, Weat-Mays et al. 2006} han encontrado que estas células hiperreflectivas representan queratocitos activados para reparar un fenotipo. La activación de queratocitos encontrada aquí y su persistencia a lo largo del estudio, podrían influir en que se produzca una disminución de queratocitos en un periodo de tiempo mayor al evaluado por nosotros como la encontrada por Zhong et al.^{Zhong et al. 2009} en los usuarios de su estudio con 5 años de uso de lentes CRT. Con nuestra investigación, también podemos afirmar que la presencia de queratocitos activados recupera valores normales después de la interrupción del tratamiento y por tanto, el factor que induce tal cambio recupera la normalidad celular.

En el grupo 4, intervenido por cirugía LASIK, se observó una disminución de la densidad celular del estroma anterior y posterior. La disminución obtenida en el estroma anterior fue estadísticamente significativa y el porcentaje de reducción fue del 19% y del 12% a los 15 días y 6 meses después del LASIK, respectivamente. Estos resultados coinciden con estudios previos^{Vesaluoma et al. 2000, Pérez-Gómez et al. 2003, Jay et al 2004 & 2006} que observaron pérdida en la densidad celular del estroma anterior a los 6 meses del mismo tipo de cirugía refractiva. El porcentaje de disminución obtenido por Jay et al.^{Jay 2004 & 2006} fue similar al nuestro, entre el 14 y el 20%. Además, informan que esta pérdida se mantiene estable durante los 6 meses siguientes y continúa disminuyendo con el paso de los años^{Jay et al. 2006, McLaren et al. 2007}.

En nuestro estudio, el estroma posterior también disminuyó su densidad celular, concretamente 9.2% y 7.3% a los 15 días y 6 meses después del LASIK, respectivamente. La reducción celular obtenida a la 15 días fue

estadísticamente significativa no siendo así a los 6 meses, cuando el estroma posterior volvió a valores no similares a los prequirúrgicos. Estos resultados confirman los hallazgos de estudios previos^{Pérez-Gómez et al. 2003, Jay et al. 2004, Jay et al. 2006} que no encontraron diferencias en el estroma posterior a los 6 meses de la cirugía. Una vez más, en este grupo 4 se verifica que el edema corneal sugerido por Efron^{Efron et al. 2002}, entorpece la visibilidad del núcleo del queratocito provocando el artefacto que obtiene disminución de la densidad celular del estroma. En este caso, los pacientes estaban la visita de seguimiento donde se prescribe el alta (a los 15 días desde la cirugía). Hasta ese momento, todos los pacientes se estaban tratando con antiinflamatorio y antibiótico, con la repercusión que esto tiene sobre la córnea. De hecho, por biomicroscopía ocular se observó la presencia de estrías corneales en el 4% de los pacientes en dicha visita de seguimiento, es decir cuando la densidad celular estuvo más disminuida. Nuestra investigación confirma la pérdida celular del estroma corneal obtenida en otros estudios. Este hecho supone una diferencia estructural respecto al tratamiento de OKN que, a falta de confirmar en estudios de mayor duración, recuperan los valores preliminares de esta variable, hecho que no podrá suceder en los casos intervenidos por cirugía refractiva. Actualmente, se está investigando sobre la repercusión de este déficit a largo plazo.

2.3 Epitelio

En el grupo 1, la densidad celular del epitelio basal disminuyó a los 15 días. La disminución celular encontrada en esta capa corneal obtuvo diferencia estadísticamente significativa y continuó disminuida después de 1 mes de uso del tratamiento CRT. El porcentaje de pérdida celular registrado fue del 11%. Este hallazgo concuerda con los resultados de Zong et al.^{Zong et al. 2009} que encontró similares resultados. Pensamos que esta pérdida celular puede ser debida a la compresión de las capas epiteliales que inducen adelgazamiento de su espesor y, por tanto, un deterioro de la visibilidad celular. Por primera vez en un estudio de valoración histológica, Ren et al.^{Ren et al. 1999} establecieron que el uso prolongado de lentes de contacto rígidas disminuye la proliferación de las células basales del epitelio corneal central. Además, estos autores

informan de un aumento de la densidad celular en el limbo de la córnea y en la conjuntiva, sugiriendo este hecho que una activación de las células de stem (localizadas en el limbo corneal) puede compensar la supresión de la proliferación de las células basales del epitelio central.

En otro estudio, Ladage et al.^{Ladage et al. 2002} afirman que las lentes de contacto en régimen de uso nocturno suprimen la proliferación de las células basales del epitelio central, retrasando el tiempo que les lleva abandonar la capa basal, disminuyendo la muerte celular programada (apoptosis) y por tanto, la supresión de la exfoliación celular. Todo lo anterior supone que el tamaño de la superficie celular aumente y que el espesor del epitelio central adelgace. En nuestro estudio se observan estos mismos resultados: mayor frecuencia en la observación de células intermedias y superficiales así como la mayor amplitud de la célula superficial al mes de iniciar el tratamiento. Otros autores^{Yamamoto et al. 2002} obtuvieron, en un modelo de conejo, que las lentes de contacto utilizadas en régimen de terapia nocturna disminuyen la regulación espontánea de la muerte celular epitelial. Este efecto es independiente de la rigidez o la transmisibilidad del material de la lente e igualmente se presenta con el cierre del párpado. También, Matsubara et al.^{Matsubara et al, 2004} detectan más células mitóticas en el área central de la córnea que usa OKN, donde las células basales aparecían aplanadas. Estos autores sugieren un retraso en la proliferación epitelial en la zona corneal central que se produce en respuesta al stress mecánico inducido por la lente de contacto. En realidad en nuestra muestra, la OKN parece afectar principalmente a las capas epiteliales y esto podría explicar el aumento en la frecuencia de la observación de las células epiteliales intermedias y especialmente, de las superficiales. Por otro lado, los cambios morfológicos observados en la amplitud celular y en el tamaño del núcleo celular también pueden estar relacionados con esta respuesta. En efecto, Ladage et al.^{Ladage et al. 2001} demostraron un aumento significativo en el tamaño de las células superficiales en usuarios de lentes rígidas. También Cheah et al.^{Cheah et al. 2008} encuentran un cambio en la exfoliación superficial del epitelio e informan de una reducción en la altura sagital de la célula basal. Por tanto, la compresión que induce la lente de contacto en las capas epiteliales parece provocar una expansión celular en visión paralela a la superficie

corneal, como hemos observado en nuestros pacientes. Cabe resaltar que Efron^{Efron 2007} informa que la capa de células superficiales es difícil de observar con MC y que es percibida ocasionalmente cuando el epitelio ha sido perturbado, como hemos podido apreciar aquí.

Estos hallazgos sugieren que aunque los cambios estromales son reversibles durante el tratamiento en cortos periodos de tiempo, no sucede lo mismo en el epitelio donde la disminución celular parece persistir durante el tratamiento. Nuestros resultados coinciden con los de Choo et al.^{Choo et al 2008} quienes piensan que la compresión celular epitelial y su deformación parecen ser los factores dominantes en respuesta al uso de OKN. Dado que el espesor epitelial continuaba reducido al mes de tratamiento, parece razonable pensar que los cambios epiteliales son más persistentes que otros cambios observados que parecen reestablecerse durante el tratamiento y a lo largo del tiempo.

En el grupo 2, la densidad celular del epitelio basal disminuyó en respuesta al uso de lentes para el tratamiento de OKN y continuó reducida en todas las visitas de seguimiento excepto en la última, cuando se recuperaron los valores preliminares. Esta reducción varió entre el 12 y el 15% y está de acuerdo con la pérdida registrada por nosotros en el grupo 1, de mayor número de pacientes (Nieto-Bona et al. Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal cell morphology and corneal thickness, aceptado). La justificación de este hecho está ampliamente discutida en los párrafos anteriores. En realidad, al igual que en el grupo 1 de este estudio, la OKN parece afectar principalmente a las capas epiteliales y esto podría explicar el aumento en la observación de las células epiteliales intermedias y especialmente, de las superficiales. En efecto, Ladage et al.^{Ladage et al. 2001} demostraron un aumento significativo en el tamaño de las células superficiales en usuarios de lentes rígidas y en usuarios en régimen de uso nocturno^{Ladage et al. 2002}, informando que la lente de contacto en uso nocturno provoca los siguientes sucesos: 1) supresión de la proliferación de las células basales en córnea central, 2) retraso del tiempo en que las células basales abandonan esta capa, 3) disminución de la muerte celular y por tanto, alarga el proceso de la exfoliación celular, 4) incrementa el tamaño del

área celular y finalmente 5) adelgaza el espesor del epitelio corneal central. También, Cheah et al.^{Cheah et al. 2008} sugieren un cambio en la exfoliación superficial del epitelio corneal. Estos autores demostraron, mediante estudios histológicos, una reducción en la altura sagital de la célula basal debido a la compresión celular que provoca la lente de contacto y por tanto, una expansión celular, en sección paralela a la córnea, como hemos observado nosotros. Sin embargo hay que resaltar que estos hallazgos se han mostrado totalmente reversibles en nuestro estudio ya que después de la interrupción del tratamiento todas las variables analizadas respecto al epitelio corneal y sus células, recuperaron los valores previos al tratamiento. Por otro lado, es importante resaltar que un reciente estudio^{Savitsky et al. 2009} que investigó los efectos de la OKN sobre el epitelio corneal mediante fluorimetría informa de que no se producen efectos adversos en la permeabilidad de la membrana epitelial.

Nuestros resultados coinciden con los de Choo et al.^{Choo et al. 2007} quienes informaron que la compresión celular epitelial y la deformación celular parecen ser los factores principales en respuesta a la OKN. Dado que el espesor epitelial se mantuvo reducido después de 1 año de tratamiento, parece que junto con el cambio en el polimegatismo endotelial son los más persistentes de los observados en esta investigación.

3. ESTUDIO DEL ESPESOR CORNEAL

Otro de los objetivos de este estudio fue evaluar los efectos de la OKN en el espesor de las diferentes capas de la córnea tanto en áreas centrales como periféricas.

En el grupo 1 se encontró un adelgazamiento epitelial tanto en la zona central como en la periferia. Sin embargo, el cambio registrado en la periferia no fue estadísticamente significativo. Podría ser casual, pero atribuimos este adelgazamiento al hecho de que las medidas obtenidas por el CS4 se realizan a 2mm de córnea central (este valor se considera periferia media). En general

en OKN, éste área esta cubierta por la zona óptica (4mm) de las lentes de contacto usadas, es decir, en el área de tratamiento y donde se produce el mayor efecto de aplanamiento. La medida periférica únicamente pudo obtenerse en 13 sujetos. El tener una muestra más reducida podría explicar la potencia estadística de esta observación. Sin embargo, el hecho de que exista acuerdo en las medidas centrales de ambas muestras ($n = 28$ y $n = 13$) podrían sugerir que lo obtenido no es una coincidencia y que el adelgazamiento encontrado a 2mm del apex corneal es real. Otros autores^{Wang et al. 2003, Alharby et al. 2003} que han investigado los efectos de la OKN sobre el espesor del epitelio periférico, encuentran un engrosamiento paracentral, sin embargo sus medidas fueron realizadas más alejadas del apex corneal que donde las hemos realizado nosotros. Estas discrepancias hacen que este hallazgo necesite confirmarse en futuras investigaciones con una muestra de mayor número de sujetos.

Los valores obtenidos con tomografía de coherencia óptica (OCT) indican también de una reducción en el espesor corneal en el área de 0 a 2mm de la centro de la córnea. Los resultados encontrados muestran que el espesor corneal comienza a aumentar desde los 2.5 a 3.0 mm desde el centro de la córnea, sin embargo nuestros resultados no fueron capaces de verificar si la naturaleza de este aumento fue epitelial. Con OKN, Alharbi & Swarbrick^{Alharby & Swarbrick 2003} encontraron un engrosamiento de la córnea paracentral más que un adelgazamiento como hemos obtenido nosotros y concluyen que el cambio en la altura de la sagita determina el efecto refractivo. En su estudio, midieron la córnea periférica a 3.25mm desde el centro de la córnea, es decir 1.25mm más alejado del apex corneal que donde se ha realizado en la presente investigación. Los valores obtenidos por nosotros con OCT en ese mismo área corneal también muestran un engrosamiento como mencionamos anteriormente.

En el grupo 1, el espesor del epitelio central disminuyó un 13.5% ($n=27$) y un 25% ($n=13$). El espesor del epitelio periférico (2 mm a nasal e inferior respecto al centro de la córnea) mostró una disminución del 15.5% ($n=13$), es decir una disminución inferior que en el centro (25%) en los mismos sujetos.

Estos valores concuerdan con el 30% de disminución obtenida por Alharby & Swarbrick^{Alharby & Swarbrick 2003} y con el 12% encontrado por Haque et al.^{Haque et al. 2004}. De acuerdo a las sugerencias de Lu et al.^{Lu et al. 2008}, las diferencias halladas entre estudios y pacientes respecto a la reducción del espesor corneal podría depender de la maleabilidad corneal que varía entre individuos. El hecho de que nuestros pacientes muestren estados refractivos similares indica que todas las córneas no responden del mismo modo al tratamiento CRT.

En la muestra **del grupo 1**, el espesor corneal obtenido mediante OCT se incrementó el 1.4% y el 1.6% a 3.5 mm y 5 mm desde el centro de la córnea, respectivamente. Estos porcentajes representan un incremento medio de 10 micras con respecto a los valores preliminares y coinciden con los valores obtenidos por Haque et al.^{Haque et al. 2004} quien describió un engrosamiento corneal paracentral que variaba entre el 1% y el 3%, dependiendo este valor de cuantas horas habían pasado desde que se retiró las lentes el paciente y se realizó la medida.

Respecto a los efectos de la OKN en el espesor de las diferentes capas corneales, **en el grupo 2** se observó adelgazamiento: del espesor corneal central, de la membrana de Bowman, del plexo nervioso subbasal y del epitelio corneal acompañado de un ligero engrosamiento del estroma a lo largo de todo el periodo de estudio. Después de interrumpir el tratamiento algunos cambios recuperaron sus valores previos a la OKN. Sin embargo, el espesor de la membrana de Bowman y del plexo nervioso subbasal continuaron disminuidos. Por primera vez, se informa de este hallazgo ya que la mayoría de los estudios muestran la persistencia del adelgazamiento epitelial central en usuarios de lentes de contacto cuando cesa el tratamiento, no habiéndose estudiado, en humanos, los otros espesores corneales definidos aquí. Cabe resaltar que, en otros estudios y debido a las técnicas de evaluación, el espesor del plexo nervioso normalmente está incluido dentro del espesor del epitelio corneal. De esta manera, nuestros resultados coincidirían con el resto de los estudios aportando el nuevo hallazgo de que sea el espesor del plexo nervioso el que se mantiene reducido una vez se interrumpe el uso de las lentes de contacto.

En nuestros pacientes del **grupo 2**, el máximo adelgazamiento del espesor corneal central fue del 3%. Este porcentaje representa una media de 13 micras de reducción respecto a la media obtenida en la visita previa al tratamiento. El engrosamiento observado en el estroma central fue del 3.3% que coincide con los resultados obtenidos por otros autores ^{Haque et al. 2004} quienes informaron de un engrosamiento en la córnea paracentral de entre el 1 al 3%. Alharby & Swarbrick ^{Alharby & Swaarbrick 2003} también observaron un engrosamiento del estroma en la periferia media. Los datos presentados fueron obtenidos entre las 10.00 y las 15.00 horas. Lo anterior podría determinar el mayor engrosamiento del estroma obtenido en nuestros pacientes e inducido por el edema nocturno, particularmente en los sujetos evaluados a las diez de la mañana.

Un hecho que nos sorprendió fue la falta de reversibilidad de la reducción de la membrana Bowman y del plexo nervioso, después de 30 días de cese del tratamiento. Estas variables no han sido estudiadas en estudios previos y no se puede comparar con nuestros resultados, que informan por primera vez de tales hallazgos. Pensamos que durante el tratamiento, parte de la reducción de estas 2 capas fuese en realidad disminución del espesor del epitelio corneal, debido a la compresión epitelial y a la menor transparencia corneal que inducían dificultad en la diferenciación de las capas en los registros de imagen obtenidos por MC durante el uso del tratamiento CRT. Sin embargo, esta explicación se contradice con el hecho de que en la visita de 13 meses estas capas continuaran disminuidas mientras que el epitelio recuperaba los valores preliminares, cuando la visibilidad de las imágenes ya no estaban alteradas por los anteriores factores. Por tanto, esto supone un hallazgo nuevo que debe confirmarse en posteriores estudios sobre el área y con mayor número de sujetos.

En el grupo 2, el espesor del epitelio corneal central disminuyó entre un 17% y un 32% y este adelgazamiento persistió en todas las visitas de seguimiento excepto después de la interrupción del tratamiento que recobro los valores previos al tratamiento. Estos valores coinciden con el 30% de reducción

obtenida por Alharby & Swarbrick^{Alharby & Swarbrick 2003}, con el 12% encontrado por Haque et al.^{Haque et al. 2004} y con el 13 a 25% obtenido por nosotros en el grupo 1 (Nieto-Bona et al. Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal cel morphology and corneal thickness, aceptado). De acuerdo a las sugerencias de Lu et al.^{Lu et al. 2008}, las diferencias halladas entre estudios y pacientes respecto a la reducción del espesor corneal podría depender de la maleabilidad corneal que varía entre individuos. El hecho de que nuestros pacientes muestren estados refractivos similares indica que todas las córneas no responden del mismo modo al tratamiento CRT. Por otro lado, las diferentes técnicas de evaluación y los diferentes tipos de lentes de contacto utilizados en las investigaciones podrían contribuir a la disparidad encontrada en los resultados.

SUMARIO

Esta investigación revela cambios obvios en varias estructuras corneales en usuarios de OKN en periodos de uso prolongado y la recuperación de la mayoría de ellas. Recientes estudios ^{Matsubara et al. 2004, Choo et al. 2008, Cheah et al. 2008, Li et al. 1997, Wang et al. 2003, Haque et al. 2004, Ladage et al. 2002, Alharby & Swarbrick 2003, Lu et al. 2008.} han investigado el efecto de los cambios morfológicos y biométricos sobre el efecto refractivo inducido por OKN. La mayoría concluye que el epitelio corneal juega el papel principal en los cambios producidos y que este efecto depende de la duración del tratamiento y del diseño de la lente utilizada ^{Choo et al. 2008.} Nuestros resultados están de acuerdo con estas investigaciones dado que los cambios morfológicos obtenidos en el epitelio corneal persisten durante el tratamiento, tanto en su espesor como en las observaciones celulares. Sin embargo, los cambios obtenidos en el espesor del estroma y particularmente en la membrana de Bowman y el plexo nervioso muestran que estas 2 últimas capas también pueden contribuir al efecto refractivo inducido. La disminución de la densidad celular del estroma anterior central y periférico medio y el aumento en la presencia de queratocitos activados observados en el grupo 1 y 2, reflejan que algún efecto secundario se está induciendo en el estroma corneal, particularmente en su porción anterior. Estos hallazgos (los referidos a la periferia) presentan una potencia estadística del 99% y sería poco común que fuesen casuales. Sin embargo es cierto que deben interpretarse con prudencia debido al menor tamaño de la muestra.

En resumen y a nuestro conocimiento, este es el primer estudio que evalúa con diseño prospectivo y en periodos largos de tiempo, los cambios morfológicos inducidos en corneas humanas por el tratamiento de OKN. Nuestros datos indican de un adelgazamiento del epitelio central y medioperiferico, de un adelgazamiento del espesor del plexo nervioso subbasal y de un engrosamiento del espesor corneal periférico. Así, los cambios refractivos pueden producirse por la combinación de los cambios topográficos y los epiteliales. Nuestros hallazgos muestran que la mayor parte de los cambios morfológicos son reversibles, exceptuando el aumento de porcentaje de polimegatismo endotelial que no recupera el valor preliminar tras la interrupción

del tratamiento. En cuanto al espesor de las diferentes capas corneales definidas en nuestro estudio, en general los cambios inducidos desaparecieron al interrumpir el tratamiento no sucediendo igual con el espesor del plexo nervioso subbasal que continuó disminuido respecto al valor preliminar. Estos hallazgos garantizan la continuación de esta línea de trabajo para comprobar los resultados obtenidos y su repercusión sobre la fisiología corneal. La variabilidad obtenida en los cambios de los que informan los estudios sugieren, a nuestro entender, que futuras investigaciones deberían realizarse en los mismos pacientes, en muestras grandes y en largos periodos de tiempo.

Respecto a la calidad visual, nuestros hallazgos indican que la OKN mejora significativamente la agudeza visual de alto y bajo contraste mediante la reducción de la magnitud de la miopía que a su vez se relaciona con el aplanamiento de los meridianos corneales y con un grado de satisfacción alto.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En la actualidad, esta investigación representa el primer estudio sobre ortoqueratología nocturna que analiza variables morfológicas de la córnea de manera prospectiva en un periodo prolongado de seguimiento y a su vez, analiza la recuperación de los cambios encontrados tras la interrupción del tratamiento. De los resultados obtenidos en el presente trabajo, de su discusión y de su interpretación en relación con aportaciones anteriores sobre el tema de investigación pueden deducirse las siguientes conclusiones:

1. La técnica de ortoqueratología utilizada en régimen de terapia nocturna con lentes CRT producen una calidad visual óptima secundaria a los cambios topográficos y refractivos en pacientes de hasta 4.75 D. de miopía y hasta 1 dioptría de astigmatismo corneal. Los mismos resultados se encuentran con la técnica de cirugía refractiva LASIK.
2. La densidad celular del endotelio corneal no se ve afectada por el tratamiento durante el periodo de un año. Sin embargo, el polimegatismo endotelial aumenta como consecuencia del tratamiento en el mismo periodo. Esta variable presenta parte de reversibilidad con la interrupción del tratamiento pero no llega a los valores obtenidos antes del comienzo del tratamiento. La cirugía LASIK no afecta el endotelio corneal después de 6 meses tras la intervención quirúrgica.
3. La densidad celular del estroma corneal en el área central presenta valores estables durante un año de seguimiento en su porción posterior y media. Sin embargo, en su porción anterior disminuye significativamente aproximadamente en un 8%. Esta pérdida se recupera una vez interrumpido el tratamiento ortoqueratológico. En el caso de la cirugía refractiva LASIK también se produce una pérdida de la densidad de queratocitos del estroma anterior establecida entre el 12% y el 19%. Sin embargo este hallazgo no es reversible.

4. La densidad celular del estroma corneal en el área periférica media (2mm desde el apex corneal) no cambia significativamente en el estroma posterior, ni en el estroma medio durante un mes de seguimiento de ortoqueratología nocturna. Sin embargo, la densidad celular del estroma anterior disminuye significativamente.
5. La presencia de queratocitos activados en el estroma corneal aumenta tanto en ortoqueratología nocturna como en LASIK durante el periodo de seguimiento realizado en cada caso. En el caso de la OKN este cambio es reversible después de finalizar el tratamiento.
6. La densidad celular del epitelio basal disminuye desde el comienzo del tratamiento CRT y se mantiene reducida a lo largo de todo el periodo de seguimiento. Por otro lado, la frecuencia en la observación de las células intermedias y superficiales del epitelio corneal se incrementa significativamente a lo largo del tratamiento. Asimismo, se produce un agrandamiento del área de las células superficiales del epitelio corneal. Todos los cambios epiteliales se muestran reversibles tras la interrupción del tratamiento.
7. En el área central, todas las capas de la córnea presentan un adelgazamiento desde el comienzo del tratamiento exceptuando el estroma corneal que se engrosa. Sin embargo, estos cambios únicamente se presentan estadísticamente significativos para el espesor del epitelio corneal y del plexo nervioso subbasal. El epitelio se torna reversible tras la finalización del tratamiento ortoqueratológico, sin embargo, la reducción observada en el espesor del plexo nervioso subbasal continúa una vez se interrumpe el uso del tratamiento CRT.
8. En el área periférica media, se reduce el espesor del epitelio corneal esta vez sin alcanzar diferencia estadísticamente significativa en el periodo de un mes desde el comienzo del tratamiento.

9. El espesor corneal total obtenido mediante tomografía de coherencia óptica se reduce significativamente en su porción central, esto es el área de 0 a 2mm desde el apex corneal, manteniéndose estable en el área de 2 a 5 mm. En el área que cubre los 5 a 10mm de la superficie corneal, el espesor corneal aumenta significativamente tanto a los 15 días como al mes de tratamiento.

10. Finalmente se concluye que, en la actualidad, la ortoqueratología nocturna representa una técnica segura y una alternativa a la cirugía refractiva LASIK, para conseguir la independencia de la compensación óptica en pacientes de hasta 4.75 D de miopía y hasta 1 D de astigmatismo corneal, dado la reversibilidad de los cambios morfológicos inducidos por la técnica y considerando que aún se desconoce la repercusión fisiológica sobre la córnea de la disminución celular del estroma en cirugía LASIK.

VII. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Alharbi A and Swarbrick HA. 2003. The effects of overnight orthokeratology lens wear on corneal thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44: 2518-2523.

Alharbi A. 2005. Corneal response to overnight orthokeratology. PhD thesis. University of New South Wales, Sydney, Australia.

Anera R, Villa C, Jimenez JR and Gutierrez AR. 2009. Effect of LASIK and contact lenses refractive therapy on higher order aberrations and contrast sensitivity function. *J Refract Surgery* 25: 277-284.

Bergmanson JP and Chu LW. 1982. Corneal response to rigid contact lens wear. *Br J Ophthalmol* 66:667-675

Berntsen DA, Barr JT and Mitchell GL. 2005. The effect of overnight contact lens corneal reshaping on higher-order aberrations and best-corrected visual acuity. *Optom Vis Sci* 82:490-497.

Berntsen DA, Mitchell G, Barr L and Joseph T. 2006. The effect of overnight contact lens corneal reshaping on refractive error-specific quality of life. *Optom Vis Sci* 83:354-359.

Blinder P, May C and Grant S. 1980. *An evaluation of orthokeratology*. *Ophthalmology* 87: 729-744.

Bourne EM. 2001. The effect of long term contact lens wear on the cells of the cornea. *CLAO* 27:225-230.

Brand RJ, Polse KA and Schwalbe JS. 1983. The Berkeley orthokeratology study. Part I. General conduct of the study. *Am J Optom & Physiol Opt.* 60: 175-186.

Carkeet NL, Mountford JA and Carney LG. 1995. Predicting success with orthokeratology lens wear: a retrospective analysis of ocular characteristics. *Optom Vis Sci.* 72: 892-898.

Caroline PJ and Andre M. 2009. New CRT Delivery System. Contact Lens Spectrum.

Cheah PS, Norhani M, Bariah M, Mying M, Lye MS and Azian AL. 2008. Profile of the corneal response to short-term reverse-geometry orthokeratology lens wear in primate corneas. Cornea 27:461-470.

Chen D, Lam AK and Cho P. 2009. A pilot study on the corneal biomechanical changes in short-term orthokeratology. Ophthalmic Physiol Opt 29: 464-471.

Chen D, Lam AK and Cho P. 2010. Posterior corneal curvature change and recovery after 6 months of overnight orthokeratology treatment. Ophthalmic Physiol Opt 30: 274-280.

Cheung SW, Cho P and Chan B. 2009. Astigmatic changes in orthokeratology. Optom Vis Sci 86:1352-1358.

Cho P, Cheung SW and Edwards M. 2005. The longitudinal orthokeratology research in children (LORIC) in Hong Kong: a pilot study on refractive changes and myopic control. Curr Eye Res 30:71-80.

Cho P, Boost M and Cheng R. 2009. Non-compliance and microbial contamination in orthokeratology. Optom Vis Sci. 86:1227-1234.

Choo JD, Caroline PJ, Harlin DD, Dustin HD, Papas EB and Holden BA. 2008. Morphologic changes in cat epithelium following continuous wear of orthokeratology lenses: a pilot study. Contact Lens & Anterior Eye 31: 29-37.

Choo JD, Holden BA, Papas EB and Willcox MD. 2009. Adhesion of pseudomonas aeruginosa to orthokeratology and alignment lenses. Optom Vis Sci 86: 93-97.

Choy CK, Cho P, Forster Benzie IF and Vincent NG. 2004. Effect of one overnight wear of orthokeratology lenses on tear composition. Optom Vis Sci 81:414-420.

Coon LJ. 1984. Ortokeratology Part II: Evaluating the Tabb method. J Am Optom Assoc 55:409-418.

Dawson DG and Holley GP. 2005. Ex Vivo Confocal Microscopy of human LASIK corneas with Histologic and Ultrastructural Correlation. Ophthalmology 112: 634-644.

De Lorenzo, S., García-Sánchez J. (2005). "Consentimientos Informados", SEO. Monografías Allergan 2005.

Downie LE and Lowe R. 2009. Overnight corneal reshaping for the correction of childhood myopia: a single case study. Clin Exp Optom 92:495-499.

Eckard A, Stave J and Guthoff R. 2006. In vivo Investigations of the corneal epithelium with the confocal rostock laser scanning microscope. Cornea 25: 127-131.

Efron N, Perez-Gomez I and Morgan PB. 2002a. Confocal microscopic observations of stromal keratocytes during extended contact lens wear. Clin Exp Optom 85:156-166.

Efron N, Mutalib HA, Perez-Gomez I and Koh HH. 2002b. Confocal microscopic observations of the human cornea following overnight contact lens wear. Clin Exp Optom 85:149-155.

Efron N. 2007. Contact lens-induced changes in the anterior eye as observed in vivo with the confocal microscope. Prog in Ret and Eye Res 26: 398–436.

Efron N and Hollingsworth JG. 2008. New perspectives on Keratoconus as revealed by corneal confocal microscopy Clin Exp Optom 91: 1: 34–55.

Egorova GB, Fedorov AA and Bobrovskikh. 2008. Influence of long-term contact lens wear on the cornea according to the data confocal microscopy. Vestn Oftalmol 124: 25-29.

Erie JC, Patel SV and McLaren JW. 2002. Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol* 134: 689–695.

Esgin H and Erda N. 2002. Corneal endothelial polymegethism and pleomorphism induced by daily wear rigid gas permeable contact lenses. *CLAO* 28: 40-43.

Fontana AA. 1972. Ortokeratology using the one piece bifocal. *Contacto* 16: 45-47.

Gifford P and Swarbrick HA. 2009. The effect of treatment zone diameter in hyperopic orthokeratology. *Ophthalmic Physiol Opt* 29: 584-592.

Gifford P, Au V, Hon B, Siu A, Xu P and Swarbrick HA. 2009. Mechanism for corneal reshaping in hyperopic orthokeratology. *Optom Vis Sci* 86: 306-311.

Hage SE, Norman EL, Miller W, Prager TC, Marsck J, Parker K, Minavi A, and Gaume A. 2007. Empiral advanced orthokeratology trough corneal topography: the university of Houston clinical study. *Eye & Contact Lens* 2007; 33: 224-235.

Hanna C, Bicknell DS and O'Brien JE. 1961. Cell turnover in the adult human eye. *Arch Ophthalmol* 65: 695-698.

Haque S, Fonn D, Simpson TL and Jones L. 2004. Corneal and epihtelial thickness changes after 4 weeks of overnight corneal refractive therapy lens wear measured with optical coherence tomography. *Eye & Contact Lens*.30: 189-193.

Haque S, Fonn D, Simpson TL and Jones L. 2008. Epihtelial thickness changes from the induction of myopia with CRTH RGP contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.49: 3345-3350.

Harris DH and Stoyan N. 1992. *A new approach to ortokeratology* *Contact Lens Spectrum* 7: 37-39.

Hibbs, A.R. 2000. Confocal microscopy for biologists: an intensive introductory course. Edited by A.R. Hibbs. Biocon, Ringwood East.

Hiraoka T, Furuya A, Matsumoto Y, Okamoto F, Kakita T and Oshika T. 2004. Influence of overnight orthokeratology on corneal endothelium. *Cornea* 23: S82-S86.

Hiraoka T, Okamoto F and Kaji Y. 2006. Optical quality of the cornea after overnight orthokeratology. *Cornea* 25:S59-S63.

Hiraoka T, Okamoto Ch, Ishii Y, Kakita T and Oshika T. 2007. Contrast sensitivity function and ocular higher-order aberrations following overnight orthokeratology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48:550-556.

Hiraoka T, Okamoto Ch, Takahira T, Kakita T and Oshika T. 2008. Mesopic contrast sensitivity and ocular higher-order aberrations after overnight orthokeratology. *Am J Ophthalmol* 645-655.

Hiraoka T, Okamoto Ch, Ishii Y, Kakita T, Okamoto F and Oshika T. 2008. Time course of changes in ocular higher-order aberrations and contrast sensitivity after overnight orthokeratology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49: 4314-4320.

Hiraoka T, Mihashi T, Okamoto C, Okamoto F, Hirohara Y and Oshika T. 2009. Influence of induced decentered orthokeratology lens on ocular higher-order wavefront aberrations and contrast sensitivity function. *J Cataract Refract Surg* 35:1918-1926.

Hiraoka T, Okamoto C, Okamoto F and Oshika T. 2009. Recovery of corneal irregular astigmatism, ocular HOA and contrast sensitivity after discontinuation of overnight orthokeratology. *Br J Ophthalmol* 93: 203-208.

Hiraoka T, Okamoto C, Ishii Y, Kakita T, Okamoto F, Takahashi H and Oshika T. 2009. Patient satisfaction and clinical outcomes after overnight orthokeratology. *Optom Vis Sci* 86: 875-882.

Hiraoka T, Kaji Y, Okamoto F and Oshika T. 2009. Corneal sensation after overnight orthokeratology. *Cornea* 28: 891-895

Hogan MI, Alvarado JA and Weddell JS. Histology of the human eye. Philadelphia. WB Saunders 1971; 102-103.

Hollingsworth J, Perez-Gomez I, Mutalib HA and Efron N. 2001. A population study of the normal cornea using an in-vivo, slit scanning confocal microscope. *Optom. Vis. Sci.* 78: 706-711.

Hollingsworth JG and Efron N. 2004. Confocal microscopy of the corneas of long-term rigid contact lens wearers. *Contact Lens & Anterior Eye* 27: 57-64.

Jalbert I and Stapleton F. 1999. Effect of lens wear on corneal stroma: preliminary findings. *Aust NZ J Ophthalmol* 27: 211-213.

Javaloy J, Vidal MT, Ruiz-Moreno JM and Alio JL. 2005. Microscopía confocal de la córnea en la cirugía fotorrefractiva. *Arch Soc Esp Oftalmol* 80: 1-21.

Jay E, Nau Ch, Mc Laren J, Hodge D and Bourne W. 2004. Long-term keratocyte deficits in the corneal stroma after LASIK *Ophthalmol* 111: 1356-1361.

Jay E, Patel S, Mc Laren J, Hodge D and Bourne W. 2006. Corneal keratocyte deficits after photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 141: 799-809.

Jessen GN. 1962. Orthofocus techniques. *Contacto* 6: 200-204.

Jessen GN. 1964. *Contact lenses as a therapeutic device*. *Am J Optom Arch Am Acad Optom* 41: 429-435.

Johnson MC, Noden DM and Hazelton RD. 1979. Origins of avian ocular and periocular tissues. *Exp Eye Res* 29: 27-43.

Joslin C, Wu S, McMahon T and Shahidi M. 2003. Higher-order wavefront aberrations in corneal refractive therapy. *Optom Vis Sci* 80: 805-811.

Johnson MC, Noden DM and Hazelton RD. 1979. Origins of avian ocular and periocular tissues. *Exp Eye Res* 29: 27-43.

Kallinikos P and Efron N. 2004. On the Etiology of Keratocyte Loss during Contact Lens Wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 3011-3020.

Kallinikos P, Morgan P and Efron N. 2006. Assessment of stromal keratocytes and tear film inflammatory mediators during extended wear of contact lens. *Cornea* 25: 1-10.

Kame RT. 1995. Flatten the cornea the non surgical way. Review of Optometry. 1995 Abril.

Kaufman SC, Musch DC, Belin MW, Cohen EJ, Meisler DM, Reinhart WJ, Udell IJ and Van Meter WS. 2004. *Confocal Microscopy*. *Ophthalmol* 111: 396-406.

Kaufman SC and Kaufman HE. 2006. How has confocal microscopy helped us in refractive surgery? *Curr Op Ophthalmol* 17: 380-388.

Kerns RL. 1976. Research in orthokeratology II: experimental design protocol method. *J J Am Optom Assoc* 47: 1275.

Kerns RL. 1976. Research in orthokeratology Part III: results and observations, *J Am Optom Assoc* 47:1505-1515.

Kent DG, Solomon KD, Peng Q, Whiteside SB, Brown SJ and Apple DJ. 1999. Effect of surface photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis on the corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg* 23: 386-397.

Kim EC and Kim MS. 2009. Bilateral acanthamoeba keratitis after orthokeratology. *Cornea* 28: 348-350.

Knappe S, Stachs O and Gutthoff R. 2007. Korneale veränderungen nach dem tragen von orthokeratologie-kontaktlinen. *Ophthalmologie* 04: 681-687.

Kobayashi A, Yokogawa H and Sugiyama K. 2006. In vivo laser confocal microscopy of Bowman layer of the cornea. *Ophthalmol* 113: 2203-2208.

Yasuko K, Ryoji Y, Nobuniko CH, Tai-Chiro CH, Kichi U and Nishida T. 2008. Reversibility of effects of orthokeratology on visual acuity, refractive error, corneal topography and contrast sensitivity. *Eye Contact Lens* 34: 224-228.

Koffler B and Smith V. 2004. Myopia reduction using corneal refractive therapy contact lens. *Eye Contact Lens* 30: 223-226.

Ladage PM, Yamamoto K, Ren DH, Li L, Jester JV, Petroll WM and Cavanagh H. 2001. Effects of rigids and soft contact lens daily wear on corneal epithelium, tear lactate dehydrogenase and bacterial binding to exfoliated epithelial cells. *Ophthalmol* 108:1279-88.

Ladage PM, Yamamoto K, Li L, Ren DH, Li L, Jester JV, Petroll WM and Cavanagh H. 2002. Corneal epithelial homeostasis following daily and overnight contact lens wear. *Contact Lens & Anterior Eye* 25: 11-21.

Ladage PM, Jester JV, Petroll WM, Bergmanson JP and Cavanagh H. 2003. Vertical movement of epithelial cells toward the corneal surface during use of extender wear contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44: 1056-1063.

Li HF, Petroll WM and Moller-Pedersen T. 1997. Epithelial and corneal thickness measurements by in vivo confocal microscopy through focusing (CMTF). *Curr Eye Res* 16: 214-221.

Lin Z, Martinez A, Chen, Li L, Sankaridurg P, Holden BA and Ge J. 2010. Peripheral Defocus with Single-Vision Spectacle Lenses in Myopic Children. *Optom Vis Sci*. 87: 4-9.

Lipson MJ. 2008. Long-term clinical outcomes for overnight corneal reshaping in children and adults. *Eye Contact Lens* 34: 94-99.

Lotoczky J and Morgan B. 2009. Myopia control with the euclid emerald contact lens and overnight orthokeratology. *Optometry* 80: 291-292.

Lu FH, Simpson T, Sorbara L and Lyndon J. 2004. The relationship between the treatment zone diameter and visual optical and subjective performance in CRT lens wear. *ARVO abstract. Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: E-Abstract 1576.

Lu F, Simpson T, Sorbara L and Fonn D. 2008. Malleability of the ocular surface in response to mechanical stress induced by orthokeratology contact lenses. *Cornea* 27:133-141.

Mac Rae SM, Matsuda M, Shellans S and Rich LF. 1986. The effects of hard and soft contact lenses on the corneal endothelium. *Am J Ophthalmol* 102: 50-57.

Maldonado-Codina C, Efron S, Morgan P, Hough T and Efron N. 2005. Empirical versus trial set fitting systems for accelerated orthokeratology. *Eye Contact Lens* 31: 137-147.

Masters BR and Thaer AA. 1994. Real-time scanning slip confocal microscopy of the in vivo human cornea. *Appl. Optics* 33: 695-701.

Mastropascua L and Nubile M. 2002. *Confocal microscopy of the cornea*. SLACK Inc, USA.

Matsubara M, Kamei Y, Takeda S, Mukai K, Ishii Y and Ito S. 2004. Histologic and histochemical changes in rabbit cornea produced by an orthokeratology lens. *Eye Contact Lens* 30: 198-204.

McLaren JW, Nau CB, Kitzmann AS and Bourne WM. 2005. Keratocyte density: comparison of two confocal microscopes. *Eye Contact Lens* 2005; 31: 28-33.

McLaren J, Nau Ch, Patel S and Bourne W. 2007 Measuring Corneal Thickness With the ConfoScan 4 and Z-Ring Adapter. *Eye Contact Lens* 33: 185-190.

McLaren JW, Patel SV, Nau CB and Bourne WM. 2007. Automated assessment of keratocyte density in clinical microscopy of the corneal stroma. *Journal of Microscopy* 229: 21-31.

Mathur A and Atchison DA. 2009. Effect of orthokeratology on peripheral aberrations of the eye. *Optom Vis Sci* 86: E476-84.

Minsky M. 1988. Memoir on inventing the confocal scanning microscope. *Scanning* 10: 128-138.

Møller-Pedersen T, Li HF, Petroll WM, Cavanagh HD and Jester JV. 1998. Confocal microscopic characterization of wound repair after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39: 487–501.

Møller-Pedersen T, Cavanagh HD, Petroll WM and Jester JV. 2000. Stromal wound healing explains refractive instability and haze development after photorefractive keratectomy: a 1-year confocal microscopic study. *Ophthalmol* 107: 1235–1245.

Mountford J. 1997. An analysis of the changes in corneal shape and refractive error induced by accelerated orthokeratology. *Int Contact Lens Clin* 24:128-143.

Mountford J. 2004. History and general principles. In *Orthokeratology. Principles and practice* (Mountford J, Ruston Dave T, eds) Oxford:Butterworth-Heinemann: 1-16.

Newcombe RG and Duff GR. 1987. Eyes or patients? Traps for the unwary in the statistical analysis of ophthalmological studies. *Br J Ophthalmol* 1987, 71: 646-646.

Nishida T. 1997. Cornea. In *Cornea, Vol. 1, Fundamentals of Cornea and External Disease*, Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. Mosby Year Books, St Louis: 3-27.

Nishida T. 2005. Cornea. In Cornea, Vol. 1, Fundamental Diagnosis and Management, Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. Elsevier Mosby, St Louis; London: 3-26.

Nolan J. 1972. *Orthokeratology with steep lenses*. Contacto 16: 31-37.

Odenthal MT, Gan IM, Oosting, Kijlstra A and Beekhuis WH. 2005. Long-term changes in corneal endothelial morphology after discontinuation of low gas-permeable contact lens wear. Cornea 24: 32-38.

Ohno K, Mitooka K, Nelson LR, Hodge DO and Bourne WM. 2002. Keratocyte activation and apoptosis in transplanted human corneas in a xenograft model. Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 1025–1031.

Olsen T. 1979. Non contact specular microscopy of the corneal endothelium. Acta Ophthalmol 57: 986-989.

Otroy T. 1967. Electrolyte content of rabbit corneal stroma. Exp Eye Res 6: 356-367.

Owens H, Garner LF, Craig JP and Gamble G. 2004. Posterior corneal changes with orthokeratology. Optom Vis Sci 81: 421-426.

Oyster CW. 1999. The Cornea and the Sclera. In The Human Eye: Structure and Function. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts: 325-378.

Paddock S.W. 1999. Confocal microscopy. Methods and protocols. *Methods in Molecular Biology*. Vol.122. Edited by S.W Paddock. Humana Press, New Jersey.

Patel SV, McLaren JW, Hodge DO and Bourne WM. 2001. Normal Human Thickness measurement by using confocal microscopy in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci 42: 333-339.

Patel SV, McLaren JW, Hodge DO and Bourne WM. 2002. Confocal microscopy in vivo in corneas of long-term contact lens wearers. Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 995-1003.

Pawley J. 1995. Handbook of biological confocal microscopy. Edited by J.Pawley. Plenum Press, New York.

Perez-Gomez I and Efron N. 2003. Change to corneal morphology after refractive surgery (myopic LASIK) as viewed with a confocal microscope. *Optom Vis Sci* 80: 690-697.

Pérez-Santonja JJ, Sakala HF and Alió JL. 1997. Evaluation of endothelial cell changes 1 year after excimer laser in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol* 115: 841-846.

Pfister RR. 1973. The normal surface of corneal epithelium: a scanning electron microscopic study. *Invest Ophthalmol* 12: 654-668.

Polse KA, Brand RJ and Schwalbe JS. 1983. The Berkeley Orthokeratology Study. Part II: efficacy and duration. *Am J Optom Physiol Opt* 60: 187-198.

Popper M, Morgado AM and Quadrado MJ. 2004. Corneal cell density measurement in vivo by scanning slit confocal microscopy: method and validation. *Ophthalmic Research* 36:270-276.

Rah MJ, Jackson JM, Jones LA, Marsden HJ, Bailey MD and Barr JT. 2002. Overnight orthokeratology: preliminary results of the lenses and overnight orthokeratology (LOOK) study. *Optom Vis Sci* 79: 598-605.

Ren DH, Petroll WM, Jester JV and Cavanagh DH. 1999. The effect of rigid gas permeable contact lens wear on proliferation of rabbit corneal and conjunctival epithelial cells. *CLAO journal* 25: 136-141.

Reinstein DZ, Gobbe M, Archer TJ, Couch D and Bloom B. 2009. Epithelial, stromal, and corneal pachymetry changes during orthokeratology. *Optom Vis Sci* 86: E1006-1014.

Riley MV. 1969. Glucose and oxygen utilization by the rabbit cornea. *Exp Eye Res* 8:193-200.

Sánchez Martín C. www10.uniovi.es/ Microscopia confocal. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. Universidad Autónoma de Madrid.

Sack RA, Tan KO and Tan A. 1992. Diurnal tear cycle: evidence for a nocturnal inflammatory constitutive tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 626-640.

Sack RA, Beaton A and Sathe S. 2000. Towards a closed eye model of the pre-ocular tear layer. *Prog Retin Eye Res* 19: 649-668.

Sack RA, Nunes I and Beaton A. 2001. Host-defense mechanism of the ocular surface. *Biosci Rep* 21: 463-480.

Savitsky DZ, Fan VC, Yildiz EH, Du TT and Asbell PA. 2009. Fluorophotometry to evaluate the corneal epithelium in eyes undergoing contact lens corneal reshaping to correct myopia. *J Refract Surg* 25: 366-370.

Sheng H, Parker EJ and Bullimore MA. 2007. An evaluation of the Confoscan3 for corneal endothelial morphology analysis. *Optom Vis Sci* 84: 888-895.

Shehadeh-Mashaour R, Segev F, Barequet IS, Ton Y and Garzozzi HJ. 2009. Orthokeratology associated microbial keratitis. *Eur J Ophthalmol* 19: 133-136.

Sorbara L, Fonn D and Simpson T. 2005. Reduction of myopia from corneal refractive therapy. *Optom Vis Sci* 82: 512-518.

Stillitano I, Schor P, Lipener C and Hofling-Lima A. 2008. Long-term follow-up of orthokeratology corneal reshaping using wavefront aberrometry and contrast sensitivity. *Eye Contact Lens* 34: 140-145.

Swarbrick HA, Wong G and O'Leary DJ. 1998. Corneal response to orthokeratology. *Optom Vis Sci* 11: 791-799.

Swarbrick HA. 2004. Orthokeratology: what is it and how does it work? *Eye Contact Lens* 30: 181-185.

Swarbrick HE. 2006. Orthokeratology review and update. *Clin Exp Optom* 89: 124-143.

Szaflik JP. 2007. Comparison of in vivo confocal microscopy of human cornea by white light scanning slit and laser scanning systems. *Cornea* 26: 438-445.

Szczotka-Flynn LB. 2010. Orthokeratology and its effects on children. *Contact Lens Spectrum*.

Thoft RA and Friend J. 1983. The X, Y, Z, hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 1442-1443.

Tsukiyama J, Miyamoto Y, Higaki S, Fukuda M and Shimomura Y. 2008. Changes in the anterior and posterior radii of the corneal curvature and anterior chamber depth by orthokeratology. *Eye Contact Lens* 34: 17-20.

Ucakhan OO, Kanpolat A, Yilmaz N and Ozkan M. 2006. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens* 32: 183–191.

Vesaluoma M, Pérez-Santonja J, Petrol WM, Linna T, Alió J and Tervo T. 2000. Corneal stromal changes induced by myopic LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 369-376.

Villa C., González Meijomé JM. 2007. Ortoqueratología nocturna. CNOO.

Villa-Collar C, González-Méijome JM, Queirós A and Jorge J. 2009. Short-term corneal response to corneal refractive therapy for different refractive targets. *Cornea*. 28: 311-316.

Walline JJ, Holden BA and Bullimore MA. 2005. The current state of corneal reshaping. *Eye Contact Lens* 31 :209-14.

Walline JJ, Jones LA and Sinnott LT. 2009. Corneal Reshaping and Myopia Progression. *Br J Ophthalmol* 93:1181-1185.

Wang J, Fonn D, Simpson TL, Sobara L, Kort R and Jones L (2005) Topographical thickness of epithelium and total cornea after overnight wear of reverse geometry rigid contact lenses for myopia reduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44: 4742-4746.

Weat-Mays J.A and Dwivedi D.J. 2006. The Keratocyte: corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *IJBCB* 38:1625-1631.

Weed KH, MacEwen CJ, Cox A and McGhee CN. 2007. Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilising in vivo confocal microscopy. *Eye* 21: 614–623.

Weissman BA, Fatt I and Rasson J. 1981. Diffusion of oxygen in human cornea in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 20: 123-125.

Wilcox PE and Bartels DP. 2010. Orthokeratology for controlling myopia: clinical experience. *Contact Lens Spectrum*.

Wilson SE, He YG and Weng J. 1996. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res* 62: 325-328.

Wilson SE and Kim WJ. 1998. Keratocyte apoptosis: implications on corneal wound healing, tissue organization and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39: 220-226.

Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, Ambrosio R, Hong JW and Lee J. 2001. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma and inflammatory cells. *Prog Ret Eye Res* 20: 625-637.

Wilson SE, Chaurasia SS and Medeiros FW. 2007. Apoptosis in the initiation, modulation and termination of the corneal wound healing response. *Exp Eye Res* 85: 305-311.

Wlodyga RJ and Bryla C. 1989. *Corneal Modeling: the easy way*. Contact Lens Spectrum 4: 58-65.

Wu R, Stapleton F and Swarbrick HA. 2009. Residual corneal flattening after discontinuation of long-term orthokeratology lens wear in asian children. Eye Contact Lens 35: 333-337.

Yamamoto K, Ladage P, Ren D, Li L, Petroll M, Jester JV and Cavanagh D. 2002. Effect of eyelid closure and overnight contact lens wear on viability of surface epithelial cell in rabbit cornea. Cornea 2: 85-90.

Zhivov A, Stave J, Vollmar B and Guthoff R. 2007. In vivo confocal microscopy evaluation of Langerhans cell density and distribution in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wearers. Cornea 26: 46-54.

Zhong X, Chen X, Xie RZ, Yang J, Li S, Yang X and Gong X. 2009. Differences between overnight and long-term wear of orthokeratology contact lenses in corneal contour, thickness and cell density. Cornea 28: 271-279. Cornea 28: 271-279.

VIII. ANEXOS

ANEXO I. Consentimiento Informado Estudio

El objetivo de este estudio es valorar los cambios morfológicos que se producen en la terapia refractiva corneal u ortoqueratología nocturna con lentes CRT y su relación con la dispersión de la luz en el ojo. La participación en este estudio es voluntaria, así como la posibilidad de retirarse del mismo en cualquier momento, siendo sus datos utilizados únicamente con fines de investigación.

El paciente deberá acudir a revisión a los 15 días, ésta visita será la determinante para continuar con la terapia y la fecha en la que se prescribirá el alta. Además, el paciente deberá revisarse al mes, 6 meses y 1 año desde la entrega de las lentes. Para mantener la salud ocular es importante acudir a las revisiones incluso aunque no se presente ninguna queja visual. Se informa de que las lentes no deberán de usarse más de un año, fecha en la que deberían renovarse las lentes si el paciente quisiera continuar con el tratamiento bajo supervisión de un especialista.

Yo (Nombre y apellidos)

DNI.....

Habiendo recibido suficiente información sobre el estudio, comprendo que mi participación es voluntaria y presto libremente mi conformidad para participar en la investigación y me comprometo a seguir las indicaciones de utilización de las lentes, limpieza y calendario de revisiones durante el periodo de estudio que se establece en un año. Para ello firmo el presente documento.

En Madrid a de de 20

Firmado

ANEXO II. Consentimiento Informado Adaptación

-HOJA DE CONSENTIMIENTO - INFORMACIÓN SOBRE TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL. CORNEAL REFRACTIVE THERAPY - CRT-

En cumplimiento de los artículos 8 y siguientes de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica le ofrecemos por escrito y de manera comprensible, la descripción de las características y posibles complicaciones del tratamiento denominado TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, cuyo objetivo principal es la corrección de la miopía.

* Existen otras **alternativas de corrección de la miopía:**

.- unas de tipo óptico (gafas o lentes de contacto)

.- y otras de tipo quirúrgico (*queratotomía radial, extracción del cristalino transparente con implante de lente intraocular, aplicación de láser Éxcimer -PRK, Lasik, Lasek-, implantación de lentes intraoculares en cámara anterior o cámara posterior, etc.*),

* La técnica de la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL **consiste en**

.- *la reducción de miopía de carácter temporal. Para conseguir el efecto esperado se modifica la forma normal de la córnea reduciendo su espesor epitelial en el centro e incrementándose en la medio periferia. Esto se consigue por medio de unas lentes de contacto especiales que se utilizan durante el sueño.*

* No obstante, y entre los **riesgos más destacados** que afectan a esta TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, destacan los siguientes:

Que cuando se utilizan lentes de contacto en general y con estas en particular pueden presentarse algunos de los siguientes problemas: escozor, resquemor o picazón del ojo; lagrimeo; secreción inusual; enrojecimiento de ojo o sequedad ocular.

Que existen posibilidades de daños temporales debido a infiltraciones periféricas, úlceras corneales periféricas y erosiones. Puede que haya posibilidades de otras observaciones fisiológicas, como edema local o generalizado, neovascularización, coloración, inyección, anomalías tarsales, iritis o conjuntivitis. Algunas de las cuales son clínicamente aceptables en bajos niveles.

Que la complicación más importante es la queratitis ulcerativa (infección). La incidencia anual de la queratitis ulcerativa en usuarios de lentes de contacto que no duermen con ellas es de 4,1 por cada 10.000 personas y de 20,9 cuando se duerme con ellas. Una vez tratadas, las queratitis ulcerativas pueden originar un deterioro variable en la visión en función de que se dañen

más o menos estructuras oculares. Ante un ojo rojo doloroso con secreciones acuosas, purulentas o muco purulentas debe de retirar las lentes y acudir de forma urgente a consulta.

Que el riesgo de queratitis ulcerativa puede ser reducido siguiendo las instrucciones para el cuidado de las lentes, incluyendo la limpieza del estuche de las mismas. Ser fumador incrementa el riesgo en 3 a 8 veces respecto a no serlo.

Que si una vez dado de alta se experimenta un incremento de la incomodidad, enrojecimiento ocular, cambios en la visión u otra anomalía no detectada durante el tratamiento, deberá de retirarse las lentes y consultar al profesional. Ante la ausencia de signos o síntomas anormales deberá de visitar al profesional de la visión de manera rutinaria tal y como se le indique.

* Los datos técnicos de su TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, podrán ser empleados con fines científicos, para ser presentados en congresos y otros foros apropiados.

Por lo tanto, leído lo anteriormente expuesto y efectuadas las aclaraciones pertinentes ante las dudas suscitadas, **CONSIDERO QUE HE SIDO INFORMADO DE MANERA CLARA COMPRENSIBLE Y PERSONAL DE LA METÓDICA Y DE LOS RIESGOS QUE PUEDAN DERIVARSE DE LA TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, Y MANIFIESTO EXPRESAMENTE QUE HE COMPRENDIDO PERFECTAMENTE ESTA INFORMACIÓN.**

Y en virtud de la información recibida, yo:

Don

mayor de edad y con DNI nº libre y voluntariamente,

DECLARO:

Que he recibido y comprendido, la información sobre la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL que se va a aplicar a

Y en consecuencia con lo anteriormente expuesto, SOLICITO expresamente la aplicación de la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, asumiendo la totalidad de los riesgos directos o indirectos que pudieran derivarse de su aplicación.

Por tanto, leído y comprendido lo expuesto anteriormente y aclaradas otras posibles dudas AUTORIZO expresamente la aplicación de la TERAPIA REFRACTIVA CORNEAL, y por ello, y en conformidad con todo lo anteriormente expuesto, firmo el presente documento de consentimiento informado, que no exime de una posible responsabilidad civil por mala práctica,

sino que confirma que yo he sido informado, he comprendido y acepto el método terapéutico propuesto.

Este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento interrumpiéndose el tratamiento cuando el paciente lo desee, siempre ateniéndome a las consecuencias que ello implique en cada momento que serán expuestas con claridad en caso de necesitarlo.

En- a..... de..... de... ..

Firmado: Firmado:

Paciente

Testigo (parentesco)

ANEXO III. Fichas de Registro de los Resultados

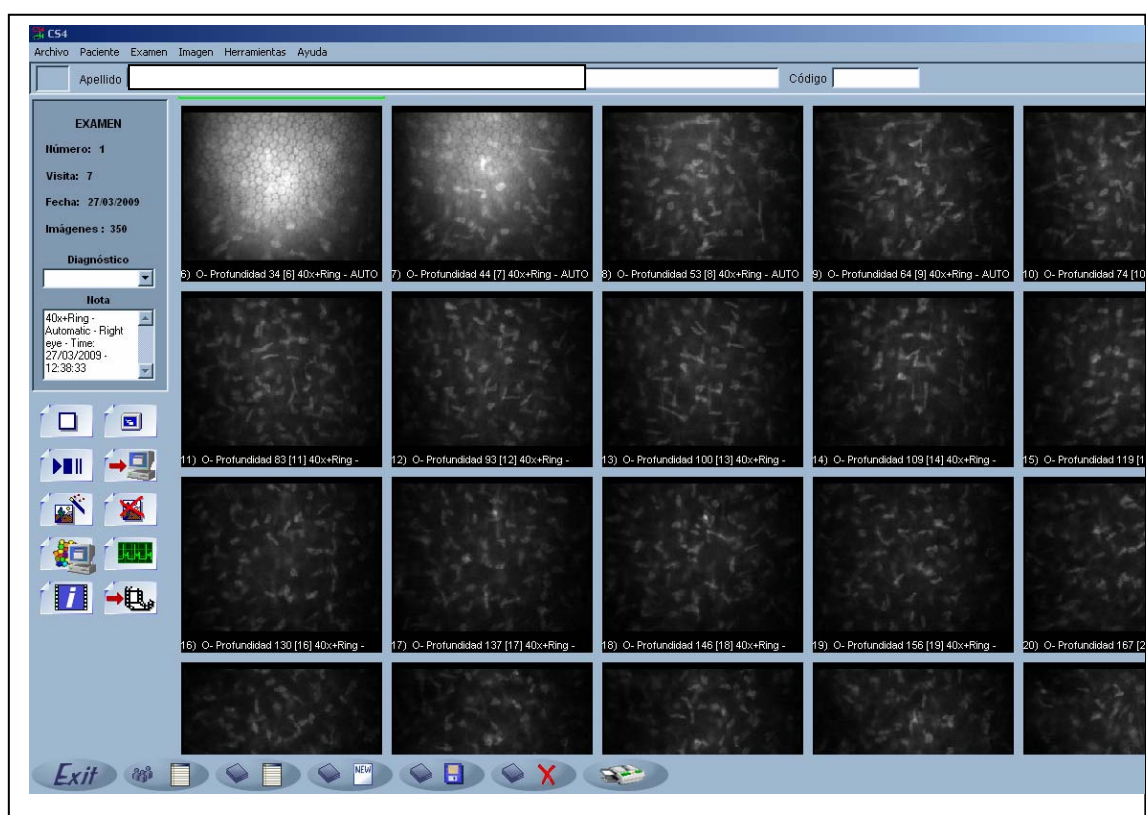
FICHA DE DATOS

Apellidos.....Fecha Nac.....

Fecha.....Visita y hora.....

FRONTO	OD OI	PUPILA OD PUPILA OI
Refracion subjetiva/objetiva (según corresponda)		
OD	AVLAC	AVLBC
AVP		
OI	AVLAC	AVLBC
AVP		
	AOLAC	AOLBC
AVP		
CONFOSCAN (guardar archivo)		
PAQUIMETRIA OPTICA	OD	OI
OD TOT	EPIT	ESTR
OI TOT	EPIT	ESTR
RECUENTO QUERATOCITOS	OD	OI
PRESENCIA PARTICULAS	OD	OI
RECUENTO ENDOTELIAL	OD	OI
C-QUANT	OD Log (s) OI Log (s)	Pupila (oscuridad) OD Pupila (oscuridad) OI
TOPOGRAFÍA y ABERROMETRIA (guardar archivos)		
LAMPARA DE HENDIDURA (anotar si existen alteraciones)		
ROJO FENOL	BUT	
OD	OD	OI
OTRAS ANOTACIONES		

ANEXO IV. Registro de Imágenes



ANEXO V. Encuesta de Satisfacción

Indique el grado de satisfacción visual obtenido con ortoqueratología nocturna	Bajo	Medio	Alto
Visión de lejos nocturna			
Visión de lejos diurna			
Visión de cerca diurna			
Conducción diurna			
Conducción nocturna			
Ver televisión/cine			
Actividades deportivas			
Salir de compras			
Usando el ordenador			
Grado de satisfacción en general			

ANEXO VI. Contribuciones Científicas

En este apartado se recogen las publicaciones en revistas científicas y las contribuciones a congresos que han servido para divulgar los resultados obtenidos durante el desarrollo de la tesis doctoral.

PUBLICACIONES

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Amalia Lorente-Velázquez, César Villa Collar, Ana González Mesa.

TÍTULO: Ortoqueratología nocturna: Calidad óptica y satisfacción a los 6 meses de uso.

REFERENCIA: Gaceta Óptica. 2009 (julio-agosto): 18-31

AUTORES (p.o. de firma): Amalia Lorente-Velázquez, Yolanda Martín Pérez , Ana González Mesa, Amelia Nieto-Bona.

TÍTULO: Estudio del straylight en pacientes usuarios de lentes de contacto hidrofílicas y rígidas gas permeable.

REFERENCIA: Gaceta Óptica. 2009 (diciembre): 32-35

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Amalia Lorente-Velázquez, César Villa Collar, Paz Nieto-Bona, Ana González Mesa

TÍTULO: Intraocular Straylight and Corneal Morphology Six Months after LASIK

REFERENCIA: Current Eye Research, 2010. 35: 212-21

AUTORES (p.o. de firma): Amalia Lorente-Velázquez, Amelia Nieto-Bona, César Villa Collar, J Ramon Gutierrez

TÍTULO: Intraocular straylight and contrast sensitivity 1/2 and 6 months after laser in situ keratomileusis

REFERENCIA: Eye Contact Lens Eye 2010. 36: 152-155

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Amalia Lorente-Velázquez, César Villa Collar, Ana González-Mesa

TÍTULO: Long-term Changes in Anterior Chamber Depth Induced by Overnight Orthokeratology

REFERENCIA: Atti della Fondazione Giorgio Ronchi (aceptado)

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Amalia Lorente-Velázquez, César Villa Collar, Paz Nieto-Bona, Ana González Mesa

TÍTULO: Short-term effects of overnight orthokeratology on corneal cell morphology and corneal thickness

REFERENCIA: Córnea (aceptado)

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Ana González Mesa, Paz Nieto-Bona, Amalia Lorente-Velázquez, César Villa Collar

TÍTULO: Long-term Changes in Corneal Morphology Induced by Overnight Orthokeratology

REFERENCIA: Current Eye Res (enviado)

CONGRESOS

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Ana González Mesa, César Villa Collar, Amalia Lorente-Velázquez.

TÍTULO: Valoración prospectiva de la densidad de queratocitos del estroma corneal durante un año de uso y un mes después del cese de ortoqueratología nocturna

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Escrita

CONGRESO: 21 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, marzo 2010

AUTORES (p.o. de firma): Ana González Mesa, Amelia Nieto-Bona, Amalia Lorente-Velázquez, César Villa Collar,

TÍTULO: Cambios paquimétricos tras un mes de uso de ortoqueratología nocturna,

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Escrita

CONGRESO: 21 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, marzo 2010

AUTORES (p.o. de firma): Amelia Nieto-Bona, Jesús Carballo Alvarez, Ricardo Cuiña, Jose Manuel Benitez del Castillo

TÍTULO: Evaluación de la morfología celular corneal en pacientes con implantes intraestromales

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Escrita

CONGRESO: 21 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica

LUGAR Y FECHA DE CELEBRACIÓN: Madrid, marzo 2010

ANEXO VII. Proyectos de Investigación relacionados con la tesis doctoral

TÍTULO: Efecto de los cambios histológicos producidos por ortoqueratología y cirugía refractiva corneal en la calidad óptica

TIPO DE CONTRATO: Acogido al artículo 83 de la LOU

ENTIDAD FINANCIADOR: Interlenco S.A.

ENTIDADES PARTICIPANTES: UCM (231/2007)

DURACIÓN: Julio 2007-Diciembre 2008

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Amelia Nieto Bona

Número de Investigadores: 3

TÍTULO: Efecto y reversibilidad de la ortoqueratología nocturna en la fisiología corneal

TIPO DE CONTRATO: Acogido al artículo 83 de la LOU

ENTIDAD FINANCIADOR: Interlenco S.A.

ENTIDADES PARTICIPANTES: UCM (87/2009)

DURACIÓN: Febrero 2009-Agosto2010

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Amelia Nieto Bona

NÚMERO DE INVESTIGADORES: 3

IX. LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

CR	Cirugía refractiva
CRT	Corneal refractive therapy
CS4	Modelo de Microscopio Confocal
FDA	Food & Drugs Administration
LASIK	Queratomileusis “in situ” asistida con láser excimer
MC	Microscopía confocal
ME	Microscopía electrónica
MO	Microscopía óptica
OK	Ortoqueratología
OKN	Ortoqueratología nocturna
OCT	Tomografía de coherencia óptica (optical coherent tomography)
PRK	Fotoqueratectomía refractiva

X. GLOSARIO DE TÉRMINOS

GLOSARIO

Anatomía	Estudio de la estructura, situación y relaciones de las diferentes partes del cuerpo de los animales o de las plantas.
Biometría	Estudio mensurativo o estadístico de los fenómenos o procesos biológicos
Bowman, mb	Capa acelular de la córnea situada entre el epitelio anterior y el estroma existente sólo en primates
Córnea	Estructura transparente que forma la parte anterior externa de la túnica del ojo
Edema	Acumulación de cantidad de líquido excesiva en o alrededor de células, tejidos o cavidades serosas del cuerpo
Epitelio	Capa más exterior de la córnea formada por tres subcapas de células bien diferenciadas que limitan con la membrana de Bowman
Estroma	La capa más gruesa de la córnea situada entre la membrana de Bowman la de Descemet
Endotelio	Capa única de células epiteliales estrechamente unidas entre si, en la frontera entre la córnea y la cámara anterior

Fibroblastos	El fibroblasto es la célula más común y menos especializada del tejido conectivo. Los que conforman el tejido del estroma de la córnea se conocen también como queratocitos
Fisiología	Ciencia que tiene por objeto el estudio de las funciones de los seres orgánicos.
Histología	Parte de la anatomía que trata del estudio de los tejidos orgánicos.
Morfología	Parte de la biología que trata de la forma de los seres orgánicos y de las modificaciones o transformaciones que experimenta.
Ortoqueratología	Adaptación de lentes de contacto con el fin de variar la curvatura de la córnea, especialmente para reducir su poder refractivo en la miopía
Pleomorfismo	Variación en las formas poligonales de las células endoteliales por una alteración en el metabolismo corneal
Polimegatismo	Variación en el tamaño de las células endoteliales por una alteración en el metabolismo corneal
Queratocitos	Principal elemento celular del estroma de la córnea